

27 SEP 2004

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003 年 10 月 23 日 (23.10.2003)

PCT

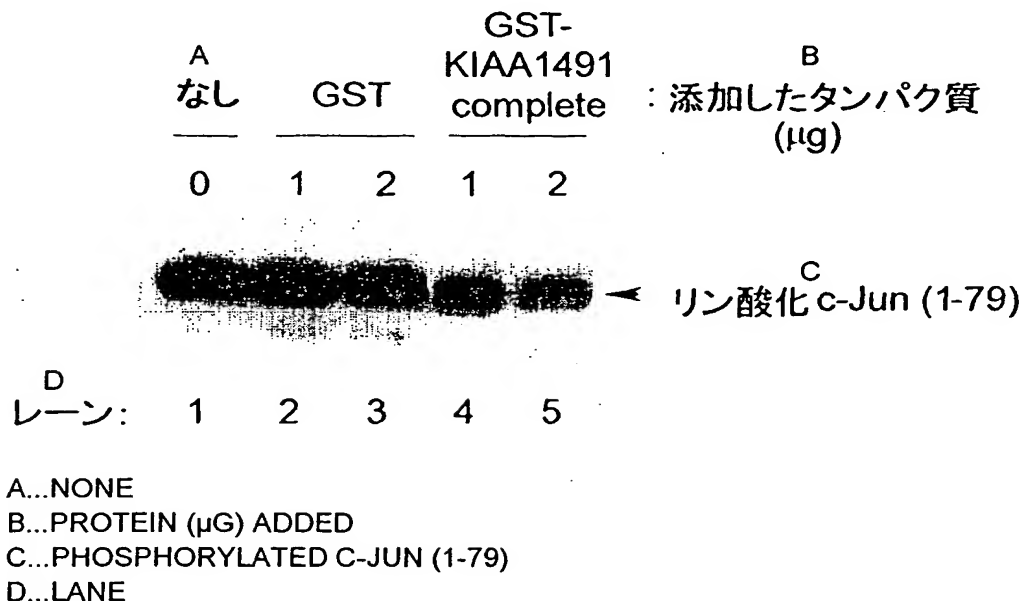
(10) 国際公開番号
WO 03/086462 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 45/00, 38/17, A61P 25/00 (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): セレスター・レキシコ・サイエンス株式会社 (CELESTAR LEXICO-SCIENCES, INC.) [JP/JP]; 〒261-8501 千葉県千葉市美浜区 中瀬 1 丁目 3 番地 幕張テクノガーデン D 棟 1 7 階 Chiba (JP). 第一製薬株式会社 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒103-8234 東京都中央区日本橋三丁目 1 4 番 1 0 号 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/04120
- (22) 国際出願日: 2003 年 3 月 31 日 (31.03.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
- | | | |
|--------------|------------------------------|----|
| 特願2002-95291 | 2002 年 3 月 29 日 (29.03.2002) | JP |
| 特願2002-95390 | 2002 年 3 月 29 日 (29.03.2002) | JP |
| 特願2002-95442 | 2002 年 3 月 29 日 (29.03.2002) | JP |
| 特願2002-95486 | 2002 年 3 月 29 日 (29.03.2002) | JP |
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 土居 洋文 (DOI, Hirofumi) [JP/JP]; 〒261-8501 千葉県千葉市美浜区 中瀬 1 丁目 3 番地 幕張テクノガーデン D 棟 1 7 階 セレスター・レキシコ・サイエンス株式会社内 Chiba (JP). 和田 直也 (WADA, Naoya) [JP/JP]; 〒134-8630 東京都江戸川区北葛西一丁目 1 6 番

[続葉有]

(54) Title: c-Jun PHOSPHORYLATION INHIBITORS

(54) 発明の名称: c-Jun リン酸化阻害剤



(57) Abstract: BMAL1, BPL1, KIAA1491 complete (SEQ ID NO:1) and KIAA0596CT (SEQ ID NO:2) having a function of interacting with c-Jun N-terminal kinase 3 are found out. Using them and peptides originating therein, drugs and medicinal compositions to be used in inhibiting the phosphorylation of c-Jun, inhibiting the functions (for example, transcription activation) of c-Jun, inhibiting apoptosis (for example, apoptosis in nerve cells) and preventing and/or treating neurodegenerative diseases (for example, polyglutamine disease and Alzheimer's disease) and a method therefor are provided.

(57) 要約: c-Jun N末端キナーゼ3と相互作用する機能を有するBMAL1、BPL1、KIAA1491 complete (配列番号1)、またはKIAA0596CT (配列番号2)を見出し、これらおよびこれらに由来

[続葉有]

WO 03/086462 A1



13号 第一製薬株式会社 東京研究開発センター
内 Tokyo (JP). 中島 弘人 (NAKAJIMA, Hiroto) [JP/JP];
〒134-8630 東京都江戸川区北葛西一丁目16番
13号 第一製薬株式会社 東京研究開発センター内
Tokyo (JP).

(74) 代理人: 庄司 隆 (SHOJI, Takashi); 〒101-0032 東京都
千代田区岩本町 3 丁目 2 番 10 号 SN岩本町ビル
6 階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI,
NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,

SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI
特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

するペプチドを利用して、c-Junリン酸化の阻害、c-Junの機能（例えば転写活性化能等）の阻害、アポ
トーシス抑制（例えば神経細胞等のアポトーシス抑制）、さらに神経変性疾患等（例えばポリグルタミン病やアル
ツハイマー病等）の防止および／または治療に用いる薬剤および医薬組成物並びにその方法を提供した。

明細書

c-Junリン酸化阻害剤

技術分野

- 5 本発明は、c-Jun N末端キナーゼ3（以下、JNK3と略称する。）と相互作用する機能を有するペプチドを含んでなるc-Junのリン酸化阻害剤、および該ペプチドを用いることを特徴とするc-Junのリン酸化阻害方法に関する。また、該ペプチドを含んでなるc-Junの転写活性化能の阻害剤および該ペプチドを用いることを特徴とするc-Junの転写活性化能の阻害方法に関する。
- 10 る。さらに、該ペプチド、該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換えベクターを導入されてなる形質転換体、および該ペプチドに対する抗体に関する。また、該形質転換体を用いる該ペプチドの製造方法、該ペプチドとJNK3との相互作用を促進するまたは阻害する化合物の同定方法、および該ペプチドをコードするポリヌクレオチドの発
- 15 現を促進するまたは阻害する化合物の同定方法に関する。さらに、該ペプチド、該ポリヌクレオチド、該ベクター、該形質転換体、該抗体、c-Junのリン酸化阻害剤、またはc-Junの転写活性化能の阻害剤を含んでなる医薬組成物、およびこれらを用いることを特徴とするc-Junのリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法に関する。

20

背景技術

- c-Jun N末端キナーゼ（以下、JNKと略称する。）はMAPキナーゼスーパーファミリーに属する蛋白質リン酸化酵素である。MAPキナーゼは細胞増殖や分化を制御する細胞内シグナル経路上で重要な役割を果たす酵素であり、増殖刺激などにより活性化する。しかしながら、JNKは古典的MAPキナーゼ（ERK）とは異なり、増殖刺激ではほとんど活性化せず、細胞に対するストレス、例えばDNA損傷、紫外線、熱、高浸透圧、ERストレスおよび活性酸素等、並
- 25

びに炎症性サイトカイン、例えば腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor) やインターロイキン1等により活性化する。

JNKがストレス応答により活性化されアポトーシスに関与することは、JNKの活性化が神経成長因子 (Nerve Growth Factor) 除去による神経系細胞株PC12細胞の細胞死において観察されたこと等から従来知られていた。近年、JNKがカスパーゼ (caspase) 依存的なアポトーシスの調節に作用すること、またカスパーゼ非依存的にJNK依存的なアポトーシスが起こることが報告されている。さらに、哺乳類において病的 (神経変性疾患) に起こる細胞死の多くが、カスパーゼ非依存的に起こることが明らかになってきた (非特許文献1)。

アポトーシスには転写依存的な細胞死 (例えば神経栄養因子除去による交感神経死やDNA損傷による死) と転写非依存的な細胞死 (例えば紫外線照射による死やFasによる死) があり、JNKは両方への関与が示唆されている。転写依存的な細胞死では、JNKがc-Junのアミノ酸配列中第63番目および第73番目のセリン (S) をリン酸化してc-Junを活性化することが認められている。例えば、c-Junのリン酸化部位をアラニン (A) に置換した変異体 (A63、A73) のノックインマウスでは、カイニン酸投与による神経死が顕著に抑制された (非特許文献2)。c-Junはトランスアクチベーターであり、遺伝子の発現制御部位に結合してその遺伝子の転写を促進する転写活性化能を有する。したがって、c-Junはその下流でなんらかのアポトーシス促進因子、例えばBimおよびFasL等の転写を誘導すると予想されている。

現在、哺乳類には3種類のJNK遺伝子、すなわちJNK1遺伝子、JNK2遺伝子、およびJNK3遺伝子が見出されている。このうちJNK3遺伝子は脳神経系等に特異的に発現しており、低酸素状態等のショック的状况で発現して脳機能に障害を与えることが知られている。また、JNK3遺伝子をノックアウトすると、カイニン酸投与による興奮性神経死が抑制されることが報告されている (非特許文献3)。

以下に、本明細書で引用した文献を列記する。

特許文献1：国際公開第WO 01/67299号公報。

非特許文献1：北中 千史ら、Molecular medicine (2000) 37: 408-418。

5 非特許文献2：Behrens, A. et al., Nature Genetics (1999) 21: 326-329。

非特許文献3：Yang, D. D. et al., Nature (1997) 389: 865-870。

10 非特許文献4：Koyano, S. et al., FEBS Letters (1999) 457: 385-388。

非特許文献5：Gekakis N. et al., Science (1998) 280: 1564-1569。

非特許文献6：Bunger M. K. et al., Cell (2000) 103: 1009-1017。

15 非特許文献7：Nippon Rinsho (1996) 54 (1): 259-267。

非特許文献8：サムブルック等編 [モレキュラークローニング, ア ラボラトリーマニュアル 第2版] コールドスプリングハーバーラボラトリー, 1989。

20 非特許文献9：村松正實編 [ラボマニュアル遺伝子工学] 丸善株式会社, 1988。

非特許文献10：エールリッヒ, H. E. 編 [PCRテクノロジー, DNA増幅の原理と応用] ストックトンプレス, 1989。

非特許文献11：Ulmer, Science (1983) 219: 666-。

25 非特許文献12：Ikeda, M. et al., Biochemical and Biophysical Research Communications (1997) 233: 258-264。

非特許文献13：Suzuki, et al., Nature Genetics

(1994) 8 (2) : 122-128。

非特許文献14 : Yasuda, S. et al., Genes to Cells (1999) 4 : 734-756。

非特許文献15 : 浦 誠司ら、実験医学 (2001) 19 : 1839-1844。

5 非特許文献16 : Nature (1957) 179 : 160-161。

発明の開示

かかる現状において本発明は、JNK3が関わるシグナル経路を阻害する物質を見出し、該シグナル経路の異常によって引き起こされる疾患、例えば細胞のア
10 ポトーシスに基づく疾患、具体的には神経変性疾患等の防止手段および／または治療手段を提供することを目的とした。

上記目的を達成すべく本発明者らは鋭意努力し、JNK3と相互作用する蛋白質BMAL1およびBPL1、並びに配列表の配列番号1、配列番号2または配
15 列番号3に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質を見出した。さらにBMAL1、および配列番号2に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質がJNK3と結合することを明らかにした。そして、これらが何れもJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害することを実証して本発明を完成した。

すなわち本発明の一態様は、JNK3と相互作用する機能を有する下記ペプチド群から選ばれる1つまたは2つ以上のペプチドを有効成分として含んでなるc
20 -Junのリン酸化阻害剤に関する；

- (i) BMAL1、
- (ii) BPL1、
- (iii) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (iv) 配列表の配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- 25 (v) 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (vi) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドを含むペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(vii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも 5 個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(viii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列において 1 個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(ix) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドと 70% 以上の相同性を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(x) 配列表の配列番号 4 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
および

(xi) 配列表の配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

また本発明の一態様は、ペプチド群が (i)、(ii)、(iii)、(iv)、(x) および (xi) からなるペプチド群である前記 c-Jun のリン酸化阻害剤に関する。

さらに本発明の一態様は、JNK 3 と相互作用する機能を有する前記ペプチド群から選ばれる 1 つまたは 2 つ以上のペプチドを JNK 3 と共存させることを含む c-Jun のリン酸化阻害方法に関する。

さらにまた本発明の一態様は、ペプチド群が (i)、(ii)、(iii)、(iv)、(x) および (xi) からなるペプチド群である前記 c-Jun のリン酸化阻害方法に関する。

また本発明の一態様は、JNK 3 と相互作用する機能を有する前記ペプチド群から選ばれる 1 つまたは 2 つ以上のペプチドを有効成分として含んでなる c-Jun の転写活性化能の阻害剤に関する。

さらに本発明の一態様は、JNK 3 と相互作用する機能を有する前記ペプチド群から選ばれる 1 つまたは 2 つ以上のペプチドと JNK 3 とを共存させることを含む c-Jun の転写活性化能の阻害方法に関する。

さらにまた本発明の一態様は、前記 c-Jun のリン酸化阻害剤または前記 c

ー J u n の転写活性化能の阻害剤を有効量含んでなる医薬組成物に関する。

また本発明の一態様は、J N K 3 による c - J u n のリン酸化に基づく疾患の防止剤および／または治療剤である前記医薬組成物に関する。

さらに本発明の一態様は、J N K 3 と相互作用する機能を有する前記ペプチド
5 群から選ばれる 1 つまたは 2 つ以上のペプチドを有効量含んでなる、J N K 3 による c - J u n のリン酸化に基づく疾患の防止剤および／または治療剤である医薬組成物に関する。

さらにまた本発明の一態様は、J N K 3 と相互作用する機能を有する前記ペプチド群から選ばれる何れか 1 つのペプチドをコードするポリヌクレオチドの 1 つ
10 または 2 つ以上を有効量含んでなる、J N K 3 による c - J u n のリン酸化に基づく疾患の防止剤および／または治療剤である医薬組成物に関する。

また本発明の一態様は、J N K 3 による c - J u n のリン酸化に基づく疾患が神経変性疾患である前記医薬組成物に関する。

さらに本発明の一態様は、神経変性疾患が、ポリグルタミン病、ハンチントン
15 病、脊髄小脳失調症、球脊髄性筋萎縮症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、アルツハイマー病、ダウン症、パーキンソン病、L e w y 小体型痴呆症、多系統萎縮症、家族性筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、p i c k 病、ファミリアル ブリティッシュ デメンチア (f a m i l i a l B r i t i s h d e m e n t i a)、クロイツフェルトーヤコブ (C r e u t z f e l d t - J a k o b) 病、ゲルストマンーストランスラー (G e r s t m a n n - S t r a n s s l e r) 症候群、狂牛病 (ウシ海綿状脳症) (B S E)、またはニューロセルピン (n e u r o s e r p i n) 封入体を伴う家族性痴呆症である前記医薬組成物に関する。

さらにまた本発明の一態様は、J N K 3 と相互作用する機能を有する前記ペプチド群から選ばれる 1 つまたは 2 つ以上のペプチドを J N K 3 と共存させること
25 を含む、J N K 3 による c - J u n のリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法に関する。

また本発明の一態様は、JNK3と相互作用する機能を有する前記ペプチド群から選ばれる何れか1つのペプチドをコードするポリヌクレオチドの1つまたは2つ以上を用いて、該ポリヌクレオチドがコードするペプチドを発現させることによりJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害することを含む、JNK3によるc-Junのリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法に関する。

さらに本発明の一態様は、前記医薬組成物を使用することを特徴とするJNK3によるc-Junのリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法に関する。

15 さらにまた本発明の一態様は、JNK3によるc-Junのリン酸化に基づく疾患が神経変性疾患である前記疾患の防止方法および／または治療方法に関する。

また本発明の一態様は、神経変性疾患が、ポリグルタミン病、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、球脊髄性筋萎縮症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、アルツハイマー病、ダウン症、パーキンソン病、Lewy小体型痴呆症、多系統萎縮症、
25 家族性筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、pick病、
ファミリアル ブリティッシュ デメンチア (familial British dementia)、クロイツフェルトーヤコブ (Creutzfeldt-Jakob) 病、ゲルストマンーストランスラー (Gerstmann-Straussler) 症候群、狂牛病 (ウシ海綿状脳症) (BSE)、またはニューロセルピン (neuroserpin) 封入体を伴う家族性痴呆症である前記疾患の防止方法および／または治療方法に関する。

さらに本発明の一態様は、下記ペプチド群から選ばれる何れか1つのペプチドに関する；

- (i) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- 25 (ii) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチドを含むペプチド、
- (iii) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列の少なくとも5個の連続するア

ミノ酸残基からなるペプチド、
および

(iv) 前記 (i) から (iii) の何れかのペプチドにおいて 1 個ないし数個のアミノ酸の変異を有するペプチド。

5 さらにまた発明の一態様は、JNK3 と相互作用する機能を有する前記ペプチドに関する。

また本発明の一態様は、前記ペプチドをコードする塩基配列またはその相補的配列を含むポリヌクレオチドに関する。

さらに本発明の一態様は、配列表の配列番号 7 に記載の塩基配列からなるポリ
10 ヌクレオチドに関する。

さらにまた本発明の一態様は、前記ポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチドに関する。

また本発明の一態様は、前記ポリヌクレオチドを含有する組換えベクターに関する。

15 さらに本発明の一態様は、組換えベクターが組換え発現ベクターである前記組換えベクターに関する。

さらにまた本発明の一態様は、前記組換えベクターを導入されてなる形質転換体に関する。

また本発明の一態様は、前記組換えベクターを導入されてなる形質転換体を培養する工程を含む前記ペプチドの製造方法に関する。
20

さらに本発明の一態様は、前記ペプチドを免疫学的に認識する抗体に関する。

さらにまた本発明の一態様は、前記ペプチドと JNK3 との相互作用を促進するまたは阻害する化合物の同定方法であって、該ペプチド、該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換
25 ベクターを導入されてなる形質転換体および該ペプチドを免疫学的に認識する抗体から選ばれる少なくとも 1 つを用いることを特徴とする同定方法に関する。

また本発明の一態様は、前記ペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現を

促進するまたは阻害する化合物の同定方法であって、該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換えベクターを導入されてなる形質転換体および該ペプチドを免疫学的に認識する抗体から選ばれる少なくとも1つを用いることを特徴とする同定方法に関する。

- 5 さらに本発明の一態様は、前記ペプチド、該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換えベクターを導入されてなる形質転換体および該ペプチドを免疫学的に認識する抗体から選ばれる少なくとも1つを有効量含んでなる医薬組成物に関する。

10 図面の簡単な説明

第1図は、JNK3とKIAA1491（配列番号6）との相互作用をインシリコで予測した結果を示す。JNK3とKIAA1491のローカルアライメントを行い、高いスコアを示した領域を表示した。上の配列および下の配列はそれぞれ、JNK3に存在する配列およびKIAA1491に存在する配列である。

- 15 第2図Aおよび第2図Bは、c-JunおよびKIAA1491 complete（配列番号1）がJNK3によりインビトロでリン酸化されたことを示す。第2図Aは、GST-c-Jun（1-79）〔グルタチオン S-トランスフェラーゼ（GST）とc-JunのN末端79アミノ酸領域との融合蛋白質〕がJNK3によりリン酸化されたが、GSTはリン酸化されなかったことを示す。第20 2図Bは、GSTとKIAA1491 completeとの融合蛋白質（GST-KIAA1491 complete）が、JNK3によりJNK3の用量依存的にリン酸化されたことを示す。図の左側に示した数値は分子量を示す。

- 第3図は、KIAA1491 complete（配列番号1）がJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害したことを示す。レーン1は、JNK3によるc-Jun（1-79）のリン酸化反応に他の蛋白質を無添加のとき、レーン2および3はGSTをそれぞれ1 μ gおよび2 μ g、レーン4および5はGST-KIAA1491 completeをそれぞれ1 μ gおよび2 μ g添加したときの
- 25

結果を示す。矢頭はリン酸化された c-Jun (1-79) を示す。

第4図は、JNK3とKIAA0569 (配列番号3) との相互作用をインシリコで予測した結果を示す。JNK3とKIAA0569のローカルアライメントを行い、高いスコアを示した領域を表示した。上の配列および下の配列はそれぞれ、JNK3に存在する配列およびKIAA0569に存在する配列である。

第5図は、KIAA0569CT (KIAA0596のアミノ酸配列第639～1217番目のアミノ酸配列からなるペプチド、配列番号2) がJNK3と結合したことを示す。上図はGST-KIAA0569CT (KIAA0569CTとGSTとの融合蛋白質) の、MBP-JNK3 [JNK3とマルトース結合蛋白質 (MBP) との融合蛋白質] との結合を、下図は陰性コントロールであるMBPとの結合をファー・ウエスタン法で検出した結果を示す。

第6図は、KIAA0569CT (配列番号2) がJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害したことを示す。レーン1および4は、JNK3によるc-Jun (1-79) のリン酸化反応に他の蛋白質を無添加のとき、レーン2および3はGSTをそれぞれ1 μ gおよび2 μ g、レーン5および6はGST-KIAA0596CTをそれぞれ1 μ gおよび2 μ g添加したときの結果を示す。矢頭はリン酸化されたc-Jun (1-79) を示す。

第7図は、JNK3とBMAL1との相互作用をインシリコで予測した結果を示す。JNK3とBMAL1のローカルアライメントを行い、高いスコアを示した領域を表示した。上の配列および下の配列はそれぞれ、JNK3に存在する配列およびBMAL1に存在する配列である。

第8図は、JNK3とBMAL2との相互作用をインシリコで予測した結果を示す。JNK3とBMAL2のローカルアライメントを行い、高いスコアを示した領域を表示した。上の配列および下の配列はそれぞれ、JNK3に存在する配列およびBMAL2に存在する配列である。

第9図Aおよび第9図Bは、BMAL1がJNK3によりインビトロでリン酸化されたことを示す。第9図Aは、精製した各GST融合蛋白質 [レーン1: G

ST-BMAL1、レーン2: GST、レーン3: GST-c-Jun (1-79)] をドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) で泳動した位置をクマシーブリリアントブルー (CBB) 染色により検出した結果を示す (矢頭)。レーンMは分子量マーカである。図の左側に示した数値は分子量を示す。第9図Bは、GST-BMAL1 (レーン1) またはGST-c-Jun (1-79) (レーン3) がJNK3によりリン酸されたが、GST (レーン2) はリン酸化されなかったことを示す。矢頭はリン酸化されたGST-BMAL1およびGST-c-Jun (1-79) を示す。

第10図は、BMAL1がJNK3の用量依存的にJNK3によりリン酸化されたことを示す。レーン1、レーン2、レーン3およびレーン4はそれぞれ、BMAL1単独、JNK3を14 ng、28 ngおよび70 ng用いた結果を示す。矢頭はリン酸化されたGST-BMAL1を示す。図の左側に示した数値は分子量マーカの分子量である。

第11図は、BMAL1がJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害したことを示す。レーン1および4は、JNK3によるc-Jun (1-79) のリン酸化反応に他の蛋白質を無添加のとき、レーン2および3はGSTをそれぞれ1 μ gおよび2 μ g、レーン5および6はGST-BMAL1をそれぞれ1 μ gおよび2 μ g添加したときの結果を示す。矢頭はリン酸化されたc-Jun (1-79) を示す。

第12図は、JNK3とBPL1との相互作用をインシリコで予測した結果を示す。JNK3とBPL1のローカルアライメントを行い、高いスコアを示した領域を表示した。上の配列および下の配列はそれぞれ、JNK3に存在する配列およびBPL1に存在する配列である。

第13図は、BPL1がJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害したことを示す。レーン1は、JNK3によるc-Jun (1-79) のリン酸化反応に他の蛋白質を無添加のとき、レーン2および3はGSTをそれぞれ1 μ gおよび2 μ g、レーン4および5はGST-BPL1をそれぞれ1 μ gおよび2 μ g添

加したときの結果を示す。矢頭はリン酸化された c - J u n (1 - 7 9) を示す。

発明を実施するための最良の形態

5 本発明は、参照によりここに援用されるところの、日本国特許出願番号第 2 0 0 2 - 9 5 2 9 1 号、同第 2 0 0 2 - 9 5 3 9 0 号、同第 2 0 0 2 - 9 5 4 4 2 号および同第 2 0 0 2 - 9 5 4 8 6 からの優先権を請求するものである。

本明細書中で使用されている技術的および科学的用語は、別途定義されていない限り、当業者により普通に理解される意味を持つ。本明細書中では当業者に既
10 知の種々の方法が参照されている。そのような引用されている公知の方法を開示する刊行物等の資料は、引用により、本明細書中にそれらの全体が完全に記載されているものと見なす。

以下、本発明について、発明の実施の態様をさらに詳しく説明する。以下の詳細な説明は例示であり、説明のためのものに過ぎず、本発明を何ら限定するもの
15 ではない。

本発明においては、JNK3 と相互作用する蛋白質を国際公開第 WO 0 1 / 6 7 2 9 9 号公報（特許文献 1）記載の方法に従って予測し、その結果 4 つの蛋白質、BPL1、BMAL1、KIAA1491（配列番号 6）および KIAA0
20 596（配列番号 3）を見出した。また、KIAA1491 の欠失していると考えられた N 末端側領域をインシリコで予測して完全長の KIAA1491（以下、KIAA1491 complete と称する。）をコードする塩基配列（配列番号 7）を得、遺伝子工学的手法により KIAA1491 complete（配列番号 1）を取得した。さらに実験により、KIAA0596（配列番号 3）の C 末
25 端領域アミノ酸配列からなる蛋白質 KIAA0596CT（配列番号 2）および BPL1 が JNK3 と結合することを明らかにした。また、BPL1、BMAL1、KIAA1491 complete（配列番号 1）および KIAA0596

CT（配列番号2）が何れもJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害することを見出した。

本明細書においては、単離された若しくは合成の完全長蛋白質；単離された若しくは合成の完全長ポリペプチド；または単離された若しくは合成の完全長オリゴペプチドを意味する総称的用語として「ペプチド」という用語を使用し、こ
5 で蛋白質、ポリペプチド若しくはオリゴペプチドは最小サイズが2アミノ酸である。以降、アミノ酸を表記する場合、1文字または3文字にて表記することがある。

また、本明細書においてJNK3と相互作用する機能を有するペプチドとは、
10 JNK3と特異的に作用し合うペプチド、具体的には例えばその機能の1つとして特異的にJNK3と接触するあるいは結合するペプチドを意味する。より具体的には、その機能の1つとしてJNK3のリン酸化能を阻害する、好ましくは拮抗的に阻害する機能を、有効量の該ペプチドとJNK3との共存在下で示すペプチドを意味する。

15 JNK3によるc-Junのリン酸化はアポトーシス、例えば神経細胞死に関与していることが報告されている（非特許文献2）。また、c-Junはトランスアクチベーターであり、遺伝子の発現制御部位に結合して当該遺伝子の転写を促進する転写活性化能を有し、そのシグナル経路の下流でなんらかのアポトーシス促進因子、例えばBimおよびFasL等の転写を誘導すると予想されている。

20 これらから、JNK3と相互作用する上記ペプチドを用いてJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害することにより、c-Junの転写活性化能を抑制することができる。さらにはJNK3によるc-Junのリン酸化により引き起こされる生理的現象、例えばアポトーシスを抑制すること、ひいてはJNK3によるc-Junのリン酸化に基づく疾患、例えば神経変性疾患等の防止および／
25 または治療が可能である。

JNK3と相互作用すると予測されたペプチドKIAA1491（配列番号6）

は、かずさDNA研究所データベースHUGEから見出したペプチド (GenBank、アクセッション番号: AB040924) であり、その機能は報告されていなかった。KIAA1491はそのN末端側領域が欠失していると考えられたため、当該欠失領域をインシリコで予測し、該領域をコードしているcDNA
5 配列がQV1-MT0132-201100-498-b05 MT0132
Homo sapiens cDNA (GenBank、アクセッション番号: BF894928) 配列に相当することを見出した。これらから、完全長のKIAA1491 (KIAA1491 complete) をコードする塩基配列 (配列番号7) を得た。KIAA1491 complete遺伝子のオープンリーディングフレーム (ORF) 全長は2361塩基対、当該遺伝子の遺伝子産物は7
10 86アミノ酸残基 (配列番号1) からなる。当該遺伝子およびその遺伝子産物については今までに報告されていない。また、KIAA1491 complete cDNAに対応するmRNAが脳に存在することを、ヒト脳由来のpolyA RNAを用いた逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) により明らかにした。
15 た。

KIAA1491 completeをヒト脳cDNAから遺伝子工学的手法により得てJNK3との相互作用を実験的に検討した結果、JNK3によりリン酸化されること、さらにJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害することを見出した。すなわち、KIAA1491 completeがJNK3と相互作用することにより、JNK3のc-Junリン酸化作用が阻害され、その結果c-Junのリン酸化が阻害されと考えている。
20

上記ペプチドの別の1つは、KIAA0596 (配列番号3) (GenBank、アクセッション番号: AB011168) である。KIAA0596の機能については報告されていなかった。KIAA0596は、JNK3と結合することが報告されているマウスJNK結合蛋白質1 (JNKBP1) (非特許文献4) (GenBank、アクセッション番号: AB029482) と74%の相同性を示すことが判明したことから、JNKBP1のヒトホモログであることが予想され
25

た。ヒトにおいては今までに JNKBP1 についての報告は無い。マウス JNKBP1 は JNK3 の c-Jun リン酸化活性を増強する JNK シグナル経路の活性化蛋白質であり、JNK シグナル経路のスキヤホールド蛋白質である JIP-1 と同じような役割を担っている可能性がある (非特許文献 4)。マウス JNKBP1 の C 末端領域が JNK3 との結合に必要であることが知られていることから、KIAA0596 の C 末端領域 (アミノ酸配列第 639 ~ 1217 番目) からなるペプチド (配列番号 2、以後 KIAA0596CT と称する。) を作製し、KIAA0596CT が JNK3 と結合すること、および活性化 JNK3 の c-Jun リン酸化を用量依存的に阻害することを見出した。すなわち、KIAA0596CT が JNK3 と結合することにより、JNK3 の c-Jun リン酸化作用が阻害され、その結果 c-Jun のリン酸化が阻害されると考えている。さらに、KIAA0596CT を含む KIAA0596 (配列番号 3) は、KIAA0596CT と同様に JNK3 と結合して JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害すると考えられる。

上記ペプチドのまた別の 1 つである BMAL1 は、JNK3 と相互作用して自らも JNK3 によりリン酸化されるが、JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害した。すなわち、BMAL1 が JNK3 と相互作用することにより、JNK3 の c-Jun リン酸化作用が阻害され、その結果 c-Jun のリン酸化が阻害されると考えている。

BMAL1 はサーカディアンリズム関連遺伝子である PERIOD 遺伝子 (PER) の転写を促進する転写因子であり、CLOCK 蛋白質とヘテロダイマーを形成し、PER 遺伝子プロモーターに存在する E-box 配列に結合する (非特許文献 5 および非特許文献 6)。BMAL1 のアイソフォームである MOP3 のノックアウトマウスでは、サーカディアンリズムの異常が見られる。

上記ペプチドのさらに別の 1 つである BPL1 は、JNK3 に結合し、JNK3 による c-Jun のリン酸化を用量依存的に阻害した。すなわち、BPL1 が JNK3 と結合することにより、JNK3 の c-Jun リン酸化作用が阻害され、

その結果 c-Jun のリン酸化が阻害されると考えている。

BPL1 はヒドロキシカルボキシラーゼ合成酵素 (Holo-carboxylase synthetase) の 1 つであり、カルボキシラーゼ、特にメチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ、アセチル CoA カルボキシラーゼ、ピルビン酸カルボキシラーゼ、およびプロピオニル CoA カルボキシラーゼの 4 種の代謝関連カルボキシラーゼにビオチンを結合させ活性化させる機能を有する (非特許文献 7)。当該酵素の欠損は、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症を引き起こす。ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症は複数のカルボキシラーゼの活性低下を反映した多彩な生化学的異常、臨床症状を示す常染色体劣性の先天性代謝異常症である (非特許文献 7)。

これら知見に基づき本発明においては、JNK3 と相互作用するペプチドを有効成分として含む c-Jun のリン酸化阻害剤および c-Jun の転写活性化能の阻害剤を提供する。また、JNK3 と相互作用するペプチドを JNK3 と共存させることを 1 つの特徴とする c-Jun のリン酸化阻害方法および c-Jun の転写活性化能の阻害方法を提供する。ここで、c-Jun の転写活性化能の阻害剤とは、c-Jun の特定 DNA 配列への結合、c-Jun と協同して転写を行う他因子との結合等、c-Jun を含む転写活性装置になんらかの形で作用することにより、最終的に c-Jun が関与する転写活性を阻害するものを意味する。

JNK3 と相互作用するペプチドは、好ましくは、KIAA1491 complete (配列番号 1)、KIAA0596CT (配列番号 2)、KIAA0596 (配列番号 3)、BMAL1、または BPL1 である。BMAL1 および BPL1 は公知のペプチドであるが、JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害することは報告されていない。BMAL1 にはいくつかのアイソフォーム、例えば BMAL1a や BMAL1b などが知られているが、いずれも本発明に使用できる。好ましくは、BMAL1b である。これらペプチドの何れかに由来するペプチド

であって、c-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチドもまた、本発明の範囲に含まれる。K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e (配列番号1)、K I A A 0 5 9 6 C T (配列番号2)、K I A A 0 5 9 6 (配列番号3)、B M A L 1、またはB P L 1に由来するペプチドとは、例えば、これら5つのペプチドの何れかを含んでなるペプチド、またはこれら5つのペプチドの何れかの部分ペプチドである。あるいは、これら5つのペプチドの何れかのペプチドのアミノ酸配列において変異を有するペプチド、またはこれら5つのペプチドの何れかと70%以上の相同性を有するペプチドであってもよい。本発明に係るc-Junのリン酸化阻害剤およびc-Junの転写活性化能の阻害剤は、上記ペプチドから選ばれる1つまたは2つ以上を有効成分として含んでなる。また、本発明に係るc-Junのリン酸化阻害方法およびc-Junの転写活性化能の阻害方法は、上記ペプチドから選ばれる1つまたは2つ以上をJNK3と共存させることを1つの特徴とする。該ペプチドとJNK3との共存は、インビトロ (in vitro) およびインビボ (in vivo) の何れにおいても行うことができる。

15 本明細書において部分ペプチドとは、当該部分ペプチドを含有するペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも5個、好ましくは8個以上のアミノ酸、より好ましくは12個以上、さらに好ましくは15個以上の連続したアミノ酸残基からなるペプチドを意味する。さらにより好ましくはJNK3と相互作用するペプチドとJNK3との接触部位等の特異的に作用する部位あるいは結合部位を含むペプチドが望ましい。かかる部分ペプチドは、例えばJNK3によるc-Junのリン酸化を拮抗的に阻害できると考えられるため、JNK3によるc-Junのリン酸化阻害に好適である。

20

上記ペプチドのアミノ酸配列において変異を有するペプチドは、そのアミノ酸配列において1個以上、例えば1~100個、好ましくは1~30個、より好ましくは1~20個、さらに好ましくは1~10個、特に好ましくは1個ないし数個のアミノ酸の欠失・置換・付加または挿入といった変異を有するアミノ酸配列からなるペプチドを意味する。かかる変異を有するペプチドは天然に存在するも

25

のであってよく、また変異を導入したものであってもよい。変異を導入する手段は自体公知であり、例えば、部位特異的変異導入法、遺伝子相同組換え法、プライマー伸長法またはポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）等を単独でまたは適宜組み合わせる用いることができる。例えば成書に記載の方法（非特許文献8、非特許文献9および非特許文献10等）に準じて、あるいはそれらの方法を改変して利用することにより得ることができる。例えばウルマーの技術（非特許文献11）を利用することもできる。このような変異の導入において、当該ペプチドの基本的な性質（物性、機能、生理活性または免疫学的活性等）を変化させないという観点からは、例えば、同族アミノ酸（極性アミノ酸、非極性アミノ酸、疎水性アミノ酸、親水性アミノ酸、陽性荷電アミノ酸、陰性荷電アミノ酸および芳香族アミノ酸等）の間での相互置換は容易に想定される。さらに、これら利用できるペプチドは、その構成アミノ基またはカルボキシル基等を、例えばアミド化修飾する等、機能の著しい変更を伴わない程度に改変が可能である。

15 KIAA1491 complete（配列番号1）、KIAA0596CT（配列番号2）、KIAA0596（配列番号3）、BMAL1およびBPL1は、慣用の遺伝子工学的手法により得ることが可能である。例えば、これらをコードするポリヌクレオチドの情報に基づき公知の方法で設計した適切なプライマーを用い、例えばヒト脳由来cDNAライブラリーを鋳型として用いて目的の遺伝子を増幅し、得られた遺伝子を発現ベクターに挿入して宿主細胞に導入することにより、これらを発現する細胞を得ることができる。また、別の例として、公知の無細胞蛋白質合成系を利用してこれらペプチド合成することも可能である。

25 KIAA1491 completeをコードするポリヌクレオチドとしては、例えば配列番号7に記載のポリヌクレオチドを用いることができる。KIAA0596CT（配列番号2）およびKIAA0596（配列番号3）をコードするポリヌクレオチドとしては、例えば配列番号8に記載のポリヌクレオチドを用いることができる。BMAL1は公知のペプチドであり（非特許文献12）、BMA

L1をコードするポリヌクレオチドが公開されている。これら配列情報を利用してBMAL1を取得可能である。例えば、配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるペプチドをコードするポリヌクレオチド、例えば配列番号9に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドを用いることができる。ヒトBPL1のcDNAも
5 既にクローニングされ（非特許文献13）、そのアミノ酸配列も開示されている。例えば、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチドをコードするポリヌクレオチド、例えば配列番号10に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドを用いて公知の遺伝子工学的手法によりBPL1を得ることができる。

KIAA1491 complete（配列番号1）、KIAA0596CT（配
10 列番号2）、KIAA0596（配列番号3）、BMAL1、またはBPL1に由来するペプチドは、それぞれのアミノ酸配列に基づいて設計して自体公知の方法で合成することにより得ることができる。例えば、ペプチドの化学合成方法としては固相合成方法、液相合成方法等が知られているが何れを用いることもできる。または、遺伝子工学的手法を用いて、慣用の方法で取得することも可能である。
15 あるいは、上記ペプチドを適当なペプチダーゼにより切断することによっても当該ペプチドの部分ペプチドを得ることができる。好ましくは、取得したペプチドからJNK3と相互作用するものをさらに選択する。例えば、KIAA0596CT（配列番号2）、KIAA0596（配列番号3）、またはBPL1に由来するペプチドについては、JNK3との結合を指標にして、JNK3との結合機能を有するものを選択することができる。あるいは、JNK3と相互作用してc-
20 Junのリン酸化を阻害するペプチドを選択する。ペプチドによるc-Junのリン酸化の阻害は、例えばJNK3によりc-Junがリン酸化される条件下において、KIAA1491 complete（配列番号1）、KIAA0596CT（配列番号2）、KIAA0596（配列番号3）、BMAL1、またはBPL
25 1に由来するペプチドを共存させて、該リン酸化が阻害されるか否かを測定することにより判定できる。c-Junのリン酸化の検出は、慣用のリン酸化蛋白質の検出方法により行うことができる。

K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e (配列番号1)、K I A A 0 5 9 6 C T (配列番号2)、K I A A 0 5 9 6 (配列番号3)、B M A L 1、またはB P L 1、あるいはこれら由来のペプチドは、J N K 3と相互作用する機能があり、J N K 3
5 によるc-J u nリン酸化の阻害作用を示す。

近年、J N Kシグナル経路が、ポリグルタミン病による細胞死のモデル系においてポリグルタミンを含む凝集体の中で活性化していること、またポリグルタミンによる細胞死をM K K 4 (J N KシグナルにおいてJ N Kの上流に位置し、J N Kをリン酸化して活性化せしめるM A Pキナーゼキナーゼ4) やc-J u nの
10 ドミナントネガティブ変異体が抑制することが報告されている(非特許文献14)。さらに、アルツハイマー病の原因遺伝子アミロイド・プレカーサー・プロテイン(A P P)の切断産物であるアミロイド β による細胞死にJ N Kが関与するというデータが示されている(非特許文献15)。

これらから、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e (配列番号1)、K I A A 0 5
15 9 6 C T (配列番号2)、K I A A 0 5 9 6 (配列番号3)、B M A L 1、またはB P L 1、あるいはこれら由来のペプチドを用いてJ N K 3によるc-J u nのリン酸化を阻害することにより、J N K 3によるc-J u nのリン酸化に関わるアポトーシスに基づく疾患、例えば神経変性疾患等の解明並びに防止および／または治療が可能になると考えられる。

20 神経変性疾患としては、次に挙げる例に限定されるものではないが、ポリグルタミン病(例えばハンチントン病、脊髄小脳失調症、球脊髄性筋萎縮症、および歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症等)、並びにアルツハイマー病、ダウン症、パーキンソン病、L e w y小体型痴呆症、多系統萎縮症、家族性筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、p i c k病、ファミリーアル プリティッ
25 シュ デメンチア(f a m i l i a l B r i t i s h d e m e n t i a)、クロイツフェルトーヤコブ(C r e u t z f e l d t - J a k o b)病、ゲルストマンーストランスラー(G e r s t m a n n - S t r a n s s l e r)症候群、

狂牛病（ウシ海綿状脳症）（BSE）、およびニューロセルピン（neuroserpin）封入体を伴う家族性痴呆症等を例示できる。

本発明においては、KIAA1491complete（配列番号1）、KIAA0596CT（配列番号2）、KIAA0596（配列番号3）、BMAL1、
5 またはBPL1、あるいはこれら由来のペプチドを単独でまたは複数組み合わせ
て利用することによって、これらのうち少なくとも1つを有効成分として含んで
なる医薬組成物を提供する。あるいは、本発明に係るc-Junリン酸化阻害剤
またはc-Junの転写活性化能の阻害剤を有効量含んでなる医薬組成物も本発
明の範囲に含まれる。本発明に係る医薬組成物は、JNK3によるc-Junの
10 リン酸化に基づく疾患、例えば神経変性疾患の防止剤および／または治療剤とし
て用いることができる。

また、KIAA1491complete（配列番号1）、KIAA0596CT（配列番号2）、KIAA0596（配列番号3）、BMAL1、またはBPL1、
15 あるいはこれら由来のペプチドの何れか1つをコードするポリヌクレオチド
を、蛋白質発現用のベクターやトランスポーターを用いてインビボで発現させて
JNK3によるc-Junのリン酸化を阻害し、上記疾患を防止および／または
治療することも可能である。これらペプチドのインビボでの発現は、公知の方法
を利用して実施できる。例えばこれらペプチドをコードするポリヌクレオチドを
処理加工して、核酸ベクター、例えば複製欠損レトロウイルスベクター等、に挿
20 入して対象の細胞中に送達することにより可能である。したがって、KIAA1491complete（配列番号1）、KIAA0596CT（配列番号2）、
KIAA0596（配列番号3）、BMAL1、またはBPL1、あるいはこれら
由来のペプチドの何れか1つをコードするポリヌクレオチドの少なくとも1つを
有効成分として含有してなる、JNK3によるc-Junのリン酸化に基づく疾
25 患の防止剤および／または治療剤である医薬組成物も本発明の範囲に含まれる。

本発明においてはまた、KIAA1491complete（配列番号1）、KIAA0596CT（配列番号2）、KIAA0596（配列番号3）、BMAL

1、またはBPL1、あるいはこれら由来のペプチドとJNK3とを共存させることを含む、JNK3によるc-Junリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法を提供する。また、本発明に係るc-Junリン酸化の阻害剤またはc-Junの転写活性化能の阻害剤を用いる、JNK3によるc-Junリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法も本発明の範囲に含まれる。さらに、KIAA1491 complete (配列番号1)、KIAA0596CT (配列番号2)、KIAA0596 (配列番号3)、BMAL1、またはBPL1、あるいはこれら由来のペプチドの何れか1つをコードするポリヌクレオチドの少なくとも1つを用いて、該ポリヌクレオチドをコードするペプチドを発現させることによりJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害することを含む、JNK3によるc-Junリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法も本発明において提供することができる。

医薬組成物の処方は、適当な医薬担体と組み合わせる方が好ましい。かかる処方は、治療上有効量のKIAA1491 complete (配列番号1)、KIAA0596CT (配列番号2)、KIAA0596 (配列番号3)、BMAL1、またはBPL1、これら由来のペプチド、これらペプチドをコードするポリヌクレオチド、あるいは該ポリヌクレオチドを含むベクターのうちの少なくとも1つに、医薬上許容される担体または賦形剤を含む。かかる担体としては、生理食塩水、緩衝化生理食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、およびそれらの混合物が挙げられるが、これらに限らない。処方投与経路に適したものを選択すればよく、該処方は当業者によく知られている。また、処方するときには、これらを単独で使用してもよく、あるいは治療に必要な他の化合物または医薬と共に使用してもよい。

投与形態は、全身投与であっても局所投与であってもよい。全身投与の好ましい一態様は、注射、例えば静脈注射が挙げられる。皮下、筋肉内または腹腔内のような他の注射経路を用いることもできる。投与の別の態様は、腸溶処方またはカプセル処方がうまく処方されるならば、経口投与も可能である。さらに、胆汁

酸塩またはフシジン酸または他の界面活性剤のような浸透剤を用いる経粘膜投与または経皮投与を用いることもできる。局所的な投与においては、膏薬、パスタ、ゲル等の形態での投与であってもよい。

- 必要な用量範囲は、治療上有効量の上記ペプチド、ポリヌクレオチドおよびベクターから選択された少なくとも何れか1つの有効性、投与経路、処方の性質、対象の症状の性質、および担当医師の判断による。具体的には、適当な用量は、例えば対象の体重1 kgあたり0.1 μ g乃至100 μ gの範囲である。しかしながら、当該分野においてよく知られた最適化のための一般的な常套的実験を用いてこれらの用量の変更を行うことができる。
- 10 製剤化にあたっては、例えば、ペプチド、ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド等各対象の物性に応じた公知の製剤化手段を導入すればよい。具体的には、例えば散剤、丸剤、錠剤、カプセル製剤、水溶液製剤、エタノール溶液製剤、リポソーム製剤、脂肪乳剤、シクロデキストリン等の包接体等の製剤化方法が利用できる。
- 15 散剤、丸剤、カプセル剤および錠剤は、ラクトース、グルコース、シュクロース、マンニトール等の賦形剤、澱粉、アルギン酸ソーダ等の崩壊剤、マグネシウムステアレート、タルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を用いて製造できる。錠剤やカプセルを製造するには、固体の製薬担体を用いられる。
- 懸濁剤は、水、シュクロース、ソルビトール、フラクトース等の糖類、PEG等のグリコール類、油類を使用して製造できる。
- 注射用の溶液は、塩溶液、グルコース溶液、または塩水とグルコース溶液の混合物からなる担体を用いて調製可能である。
- 25 リポソーム化は、例えばリン脂質を有機溶媒（クロロホルム等）に溶解した溶液に、当該物質を溶媒（エタノール等）に溶解した溶液を加えた後、溶媒を留去し、これにリン酸緩衝液を加え、振とう、超音波処理および遠心処理した後、上

清をろ過処理して回収することにより行い得る。

脂肪乳剤化は、例えば当該物質、油成分（大豆油、ゴマ油、オリーブ油等の植物油、MCT等）、乳化剤（リン脂質等）等を混合、加熱して溶液とした後に、必要量の水を加え、乳化機（ホモジナイザー、例えば高圧噴射型や超音波型等）を用いて、乳化・均質化処理して行い得る。また、これを凍結乾燥化することも可能である。なお、脂肪乳剤化するとき、乳化助剤を添加してもよく、乳化助剤としては、例えばグリセリンや糖類（例えばブドウ糖、ソルビトール、果糖等）が例示される。

シクロデキストリン包接化は、例えば当該物質を溶媒（エタノール等）に溶解した溶液に、シクロデキストリンを水等に加温溶解した溶液を加えた後、冷却して析出した沈殿をろ過し、滅菌乾燥することにより行い得る。このとき、使用されるシクロデキストリンは、当該物質の大きさに応じて、空隙直径の異なるシクロデキストリン（ α 、 β 、 γ 型）を適宜選択すればよい。

さらに本発明においては、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチドK I A A 1 4 9 1 c o m p l e t eを提供する。本発明の範囲には、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むペプチド、または該アミノ酸配列の少なくとも5個の連続するアミノ酸残基からなるペプチド（部分ペプチド）等、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t eに由来するペプチドも包含される。さらに、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t eまたはこれに由来するペプチドに基づいて、JNK3との相互作用、例えばJNK3によるリン酸化やJNK3によるc-Junのリン酸化の阻害を指標にして、1個以上、例えば1～100個、好ましくは1～30個、より好ましくは1～20個、さらに好ましくは1～10個、特に好ましくは1個ないし数個のアミノ酸の欠失、置換、付加あるいは挿入といった変異を有するアミノ酸配列からなるペプチドも提供できる。変異を有するペプチドは天然に存在するものであってよく、また変異を導入したものであってもよい。欠失、置換、付加あるいは挿入等の変異の導入は上記方法により実現できる。

K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドは、それらを遺伝子工学的手法で発現させた細胞、無細胞系合成産物、化学合成産物、または該細胞や生体試料から調製したものであってよく、これらからさらに精製されたものであってもよい。また、それらの性質や機能、例えば J N K 3 との相互作用、例えば J N K 3 によるリン酸化あるいは J N K 3 による c - J u n リン酸化の阻害に影響しない限りにおいて、N末端側やC末端側に別のタンパク質やペプチド等を直接的にまたはリンカーペプチド等を介して間接的に遺伝子工学的手法等を用いて付加することにより標識化したものであってもよい。好ましくは、それらの基本的な性質が阻害されないような標識化が望ましい。付加するタンパク質やペプチド等としては、例えばグルタチオン S - トランスフェラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ホースラディッシュ・パーオキシダーゼ (H R P) またはアルカリホスファターゼ等の酵素類、H i s - t a g、M y c - t a g、H A - t a g、F L A G - t a g または X p r e s s - t a g 等のタグペプチド類、グリーン蛍光タンパク質、フルオレセインイソチオシアネート (f l u o r e s c e i n i s o t h i o c y a n a t e) またはフィコエリスリン (p h y c o e r y t h r i n) 等の蛍光物質類、マルトース結合タンパク質、免疫グロブリンの F c 断片、ビオチン、あるいは放射性同位元素等が挙げられるが、これらに限定されない。標識化するとき、これら蛋白質やペプチド等は単独で付加してもよいし複数を組み合わせて付加することもできる。これら標識化に用いたタンパク質またはペプチド等の物質自体、またはその機能を測定することにより、例えばこれらペプチドと J N K 3 との相互作用を検出することが可能であり、また本発明に係るペプチドの検出または精製が容易になる。

K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e に由来するペプチドのうち、J N K 3 と相互作用するものは、J N K 3 による c - J u n のリン酸化を阻害する物質として、または J N K 3 と K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e との相互作用を調節する化合物の同定において有用である。また、免疫学的に認識され得るペプチド、例えばエピトープペプチドは後述するように K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e に対

する抗体を作製するための抗原として単独またはキャリア（例えば、キーホールリンペットヘモシアニンまたは卵白アルブミン）と結合して使用できる

K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドをコードする塩基配列またはその相補的配列を含んでなるポリヌクレオチドもまた本発明に
5 おいて提供可能である。例えば、該ポリヌクレオチドは、配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチドをコードする塩基配列またはその相補的配列を含んでなるポリヌクレオチドであり得る。好ましくは、配列表の配列番号 7 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドである。これらは例えば K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドの製造に有用な遺伝子情報
10 を提供するものであり、あるいは核酸に関する試薬または標準品としても利用できる。

また、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドのアミノ酸配列、例えば配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列またはその相補的配列を含んでなるポリヌクレオチドの対応する領域にスト
15 リンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチドを提供する。ハイブリダイゼーションの条件は、例えば成書に記載の方法（非特許文献）等に従うことができる。これらのポリヌクレオチドは目的のポリヌクレオチド、例えば配列表の配列番号 7 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖にハイブリダイゼーションするものであれば相補的配列でなくともよい。
20 例えば、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e をコードする遺伝子の塩基配列またはその相補的配列に対する相同性において好ましくは 85% 以上、より好ましくは 90% 以上、さらに好ましくは 95% 以上の相同性を示すポリヌクレオチドであり得る。これらポリヌクレオチドの指定された塩基配列の領域の連続する 10 個以上のヌクレオチド、好ましくは 15 個以上、より好ましくは 20 個以上のヌ
25 クレオチドからなるポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドも本発明に包含される。これらポリヌクレオチドはその機能、例えばコードするペプチドの発現や、発現されたペプチドの機能が阻害されない限りにおいて、5' 末端側や C'

末端側に、例えば、グルタチオン S-トランスフェラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ホースラディッシュ・パーオキシダーゼ (HRP) またはアルカリホスファターゼ等の酵素類、His-tag、Myc-tag、HA-tag、FLAG-tag または Xpress-tag 等のタグペプチド類、またはグリーン蛍光タンパク質等の遺伝子が付加されたものであってもよい。これらポリヌクレオチドは、KIAA1491 complete またはこれに由来するペプチド等の製造に有用である。さらに、KIAA1491 complete をコードする遺伝子または mRNA の検出のためのプローブまたはプライマーとして、または該遺伝子発現を調節するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド等として有用である。その意味で、これらポリヌクレオチドは翻訳領域のみでなく、非翻訳領域に対応するものも包含する。また、アンチセンスオリゴヌクレオチドによって KIAA1491 complete をコードする遺伝子の発現を特異的に阻害するためには、該遺伝子に固有な領域の塩基配列を用いることが好ましい。KIAA1491 complete またはこれに由来するペプチドをコードするポリヌクレオチドは、例えば公知の蛋白質発現系を利用して発現蛋白質の確認を行い、その生理活性を指標にして得ることが可能である。例えば JNK3 との相互作用、具体的には例えば JNK3 によるリン酸化または JNK3 による c-Jun リン酸化の阻害を指標にすることができる。発現系としては、無細胞蛋白質発現系を利用する場合は、例えば胚芽、家兎網状赤血球等由来のリボソーム系の技術を利用できる (非特許文献 16)。

ポリヌクレオチドを適当なベクター DNA に組み込むことにより、組換えベクターを得ることができる。用いるベクター DNA は、宿主の種類および使用目的により適宜選択される。ベクター DNA は、天然に存在するものを抽出したもののほか、増殖に必要な部分以外の DNA の部分が一部欠落しているものでもよい。例えば、染色体、エピソームおよびウイルス由来のベクター、例えば細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来、酵母エピソーム由来、挿入エレメント由来、酵母染色体エレメント由来、例えばバキュロウイルス、パ

ポバウイルス、SV40、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、
仮性狂犬病ウイルスおよびレトロウイルス等のウイルス由来のベクター、並びに
それらを組み合わせたベクター、例えばプラスミドおよびバクテリオファージの
遺伝学的エレメント由来のベクター、例えばコスミドおよびファージミド等が挙
5 げられる。また、目的により発現ベクターやクローニングベクター等を用いるこ
とができる。

組換えベクターは、目的の遺伝子配列と複製そして制御に関する情報を担持し
た遺伝子配列、例えばプロモーター、リボソーム結合部位、ターミネーター、シ
グナル配列、エンハンサー等とを構成要素とし、これらを自体公知の方法により
10 組み合わせて作製する。ベクターDNAにポリヌクレオチドを組み込む方法は、自
体公知の方法を適用できる。例えば、適当な制限酵素を選択、処理してDNAを
特定部位で切断し、次いで同様に処理したベクターとして用いるDNAと混合し、
リガーゼによって再結合する方法が用いられる。あるいは、目的のポリヌクレオ
チドに適当なリンカーをライゲーションし、これを目的に適したベクターのマル
15 チクローニングサイトへ挿入することによっても、所望の組換えベクターが得ら
れる。

ベクターDNAを、自体公知の宿主に自体公知の方法で導入することにより形
質転換体を得られる。宿主に導入するベクターDNAは、1種のベクターDNA
であってもよく、2種以上のベクターDNAを導入してもよい。宿主としては、
20 例えば大腸菌、酵母、枯草菌、昆虫細胞または動物細胞等が例示できる。ベク
ターDNAの宿主細胞への導入は、自体公知の手段が応用され、例えば成書に記載
されている標準的な方法（非特許文献8）により実施できる。より好ましい方法
としては、遺伝子の安定性を考慮するならば染色体内へのインテグレート法が挙
げられるが、簡便には核外遺伝子を利用した自律複製系を使用できる。具体的に
25 は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トラ
ンスフェクション、マイクロインジェクション、陽イオン脂質媒介トランスフェ
クション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレープ負荷（s c r a p e

loading)、バリスティック導入 (ballistic introduction) および感染等が挙げられる。

後述する実施例においては、昆虫細胞を利用したが、無論これに限定されるものではない。

- 5 KIAA1491 complete またはこれに由来するペプチドは、その塩基配列の情報、例えば配列表の配列番号 7 に記載の塩基配列に基づいて、公知の遺伝子工学的手法により得ることが可能である。例えば、当該塩基配列にしたがって設計し公知の方法で合成したプライマーを用いて、ヒト脳由来 cDNA ライブラリーから目的の遺伝子を増幅し、発現ベクターに挿入して宿主細胞に導入し、
- 10 当該ペプチドを発現する細胞を構築し、当該細胞から公知の方法で目的のペプチドを抽出して精製することにより得られる。また、公知の無細胞蛋白質合成系を利用して合成することも可能である。後述する実施例では、昆虫細胞を用いた遺伝子発現系を用い、PCR により増幅した KIAA1491 complete の ORF 部分を組み込んだバキュロウイルスを作成して昆虫細胞 Sf9 に感染させ、
- 15 発現誘導することにより KIAA1491 complete を得たが、KIAA1491 complete の取得方法は、この実施例に限定されない。

- 例えば、ベクター DNA として発現ベクターを使用して、目的のペプチドをコードするポリヌクレオチドを挿入する。得られたベクターを導入した形質転換細胞を、自体公知の各々の宿主の培養条件に最適な条件を選択して培養し、その培養液または細胞自体から、目的のペプチドを回収および／または精製する。回収
- 20 および／または精製は、目的のペプチドの性質あるいは機能を指標として行う。例えば JNK3 によるリン酸化や JNK3 による c-Jun リン酸化の阻害作用を指標にすることができる。KIAA1491 complete またはこれに由来するペプチドの場合、JNK3 によるそれ自体のリン酸化蛋白質を指標にすることもできる。回収および／または精製の方法としては、硫酸やアルコール等を用いた溶解度差に基づく分画手段、ゲルろ過、イオンカラムクロマトグラフィー、
- 25 アフィニティクロマトグラフィー等が挙げられ、これらを単独でまたは組み合わせ

せて使用する。好ましくは、該ペプチドのアミノ酸配列情報に基づき、これらに特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を作成し、該抗体を用いて特異的に吸着回収する方法を使用する。

- 抗体は、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドを
5 抗原として用いて作製する。抗原は該ペプチド、またはそれらの断片でもよく、
少なくとも8個、好ましくは少なくとも10個、より好ましくは少なくとも12
個、さらに好ましくは15個以上のアミノ酸で構成される。K I A A 1 4 9 1 c
o m p l e t e またはこれに由来するペプチドに特異的な抗体を作成するため
10 は、これらに固有なアミノ酸配列からなる領域を用いることが好ましい。この領
域のアミノ酸配列は、必ずしもこれらのものと相同または同一である必要はなく、
その立体構造上の外部への露出部位が好ましく、露出部位のアミノ酸配列が一次
構造上で不連続であっても、該露出部位について連続的なアミノ酸配列であれば
よい。抗体は免疫学的に該ペプチドを結合または認識する限り特に限定されない。
この結合または認識の有無は、公知の抗原抗体結合反応によって決定できる。
- 15 抗体の産生には、自体公知の抗体作製法を利用できる。例えば、抗原をアジュ
バントの存在下または非存在下で、単独でまたは担体に結合して動物に投与し、
体液性応答および/または細胞性応答等の免疫誘導を行うことにより抗体が得ら
れる。担体はそれ自体が宿主に対して有害作用を示さずかつ抗原性を増強せしめ
るものであれば特に限定されず、例えばセルロース、重合アミノ酸、アルブミン
20 およびキーホールリンペットヘモシアニン等が例示できる。アジュバントとして
は、フロイント完全アジュバント (F C A)、フロイント不完全アジュバント (F
I A)、R i b i (M P L)、R i b i (T D M)、R i b i (M P L + T D M)、
百日咳ワクチン (B o r d e t e l l a p e r t u s s i s v a c c i n e)、
ムラミルジペプチド (M D P)、アルミニウムアジュバント (A L U M)、および
25 これらの組み合わせを例示できる。免疫される動物は、マウス、ラット、ウサギ、
ヤギ、ウマ等が好適に用いられる。

ポリクローナル抗体は、免疫手段を施された動物の血清から自体公知の抗体回

収法によって取得できる。好ましい抗体回収手段として免疫アフィニティクロマトグラフィー法が挙げられる。

モノクローナル抗体は、免疫手段が施された動物から抗体産生細胞（例えば、脾臓またはリンパ節由来のリンパ球）を回収し、自体公知の永久増殖性細胞（例えば、P 3-X 6 3-A g 8 株等のミエローマ株）への形質転換手段を導入することにより生産できる。例えば、抗体産生細胞と永久増殖性細胞とを自体公知の方法で融合させてハイブリドーマを作成してこれをクローン化し、目的とするペプチドを特異的に認識する抗体を産生するハイブリドーマを選別し、該ハイブリドーマの培養液から抗体を回収する。

かくして得られたポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体は、ペプチドの精製用抗体、試薬または標識マーカ等として利用できる。

K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチド、これらの何れかをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含むベクター、該ベクターを導入されてなる形質転換体あるいはこれらペプチドの何れかを認識する抗体のうちの少なくとも1つを有効成分として含む医薬組成物も、本発明の範囲に包含される。

K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチド、これをコードする塩基配列またはその相補的塩基配列を含むポリヌクレオチド、当該ポリヌクレオチドを含むベクター、該ベクターを導入されてなる形質転換体、これらを免疫学的に認識する抗体、およびこれらを用いる蛋白質合成系は、単独または複数を組み合わせることによって、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e の活性阻害剤または活性促進剤、あるいはK I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e の発現阻害剤または発現促進剤の同定に有効な手段を提供する。同定方法は自体公知の医薬品スクリーニングシステムを利用して構築可能である。被検物質としては、例えば化学ライブラリーや天然物由来の化合物、またはK I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドの立体構造に基づいてドラッグデザインして得られた化合物等が挙げられる。

- 詳しくは、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドと、被検物質との間の接触等の特異的作用を可能にする条件を選別し、この相互作用の有無を検出することのできるシグナルおよび／またはマーカーを使用する系を導入し、このシグナルおよび／またはマーカーの存在、不存在、またはその変化を検出することにより、本発明に係るペプチドの活性を促進または阻害する化合物を同定可能である。例えば、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドと J N K 3 との相互作用あるいは J N K 3 によるリン酸化を指標にして、当該相互作用やリン酸化を調節し得る化合物を選別することができる。具体的には例えば、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e、J N K 3 および ATP (アデノシン三リン酸) の共存下で被検物質を添加してリン酸化反応を行い、リン酸化された K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e の量を測定する。被検物質無添加の反応で得られた結果と比較して、反応後のリン酸化蛋白質の量が低減していれば、該被検物質は K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e と J N K 3 との相互作用を阻害すると判定できる。また反応後のリン酸化蛋白質の量が増加していれば、該被検物質は K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e と J N K 3 との相互作用を促進すると判定できる。また別の例として、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e、J N K 3、c - J u n および ATP の共存下で被検物質を添加してリン酸化反応を行い、リン酸化された c - J u n の量を測定する同定方法が挙げられる。被検物質無添加の反応で得られた結果と比較して、リン酸化された c - J u n の量が低減していれば、該被検物質は K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e と J N K 3 との相互作用を促進すると判定できる。またリン酸化された c - J u n の量が増加していれば、該被検物質は K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e と J N K 3 との相互作用を阻害すると判定できる。

- K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e またはこれに由来するペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現を可能にする条件を選別し、ここに被検物質を存在させて、該ポリヌクレオチドの発現を検出することのできるシグナルおよび／またはマーカーを使用する系を導入し、このシグナルおよび／またはマーカーの存在、

不存在、またはその変化を検出することにより、該ポリヌクレオチドの発現を促進するまたは阻害する化合物を同定可能である。例えば、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e 遺伝子のプロモーター領域の下流に、K I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e をコードするポリヌクレオチドの代わりにレポーター遺伝子を連結したベクターを作成し、該ベクターを導入した細胞、例えば真核細胞等と被検物質とを接触させ、レポーター遺伝子の発現の有無および変化により、本発明に係る遺伝子の発現に影響を与える化合物を同定可能である。被検物質を接触させないときと比較してレポーター遺伝子の発現量が増加したとき、該被検物質はK I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e の発現を促進すると判定できる。また、発現量が低減したとき、該被検物質はK I A A 1 4 9 1 c o m p l e t e の発現を阻害すると判定できる。

ここでシグナルとは、そのもの自体がその物理的または化学的性質により直接検出され得るものを指し、マーカーとはそのものの物理的または生物学的性質を指標として間接的に検出され得るものを指す。シグナルとしてはルシフェラーゼ、G F P、および放射性同位体等、マーカーとしては、レポーター遺伝子、例えばβ-ガラクトシダーゼやクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（C A T）遺伝子等、または検出用の t a g、例えば6×H i s - t a g 等、公知のものが利用できる。これらのシグナルまたはマーカーの検出方法は、当業者には周知のものである。

実施例

以下、本発明を実施例に基づき具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されるものではない。

実施例 1

（JNK3と相互作用する蛋白質のインシリコでの探索）

JNK3と相互作用する蛋白質を、国際公開第WO01/67299号公報（特許文献1）に記載の予測方法にしたがってインシリコ（i n s i l i c o）で

予測した。すなわち、JNK3のアミノ酸配列をある長さのオリゴペプチドに分解し、各オリゴペプチドのアミノ酸配列あるいはそのアミノ酸配列と相同なアミノ酸配列を持った蛋白質をデータベース中で検索し、得られた蛋白質とJNK3との間でローカルアライメントを行い、ローカルアライメントのスコアの低いものをJNK3と相互作用すると予測した。ここではローカルアライメントのスコアを、国際公開第WO01/67299号公報に記載の方法と同様に、25.0以上とした。また、JNK3は脳神経系に特異的に発現する蛋白質であり、低酸素状態等のショック的状况で発現し脳機能に障害を与えることが分かっているの
5 10 15 20 25

で、JNK3と相互作用する蛋白質の候補は、脳で発現し重要な機能を持っている既知の蛋白質に絞った。

この結果、JNK3由来の6アミノ酸残基からなるオリゴペプチドQGFDKQ（配列番号11）と相同性あるオリゴペプチドQTFDKQ（配列番号12）が、機能未知の蛋白質KIAA1491（配列番号6）のアミノ酸配列中に存在することが分かった。第1図に、JNK3（図中、上の配列）とKIAA1491（図中、下の配列）とのローカルアライメントの結果を示した。
(完全長KIAA1491のインシリコでの配列決定)

KIAA1491（配列番号6）はかずさDNA研究所データベースHUGEによるとN末端が欠失している可能性があったので、N末端側領域をコードしているcDNA配列をインシリコにより予測した。まずKIAA1491の5'末端120塩基をblastn検索し、QV1-MT0132-201100-498-b05 MT0132 Homo sapiens cDNA (GenBank、アクセッション番号:BF894928)と120塩基に渡り100%の相同性を示すことを見出した。KIAA1491の第1~120番目の塩基がBF894928の第358~477番目の塩基に相当することから、BF894928はKIAA1491の上流配列を有していると考えられた。次いで、BF894928をKIAA1491と同一フレームでインシリコ翻訳して得られる上流から第2番目のメチオニンをファーストメチオニンと考え、対応するmR

NAが脳に存在することを、ヒト脳由来のpolyA RNAを用いたRT-PCRにより確認した。このメチオニンまで上流域を延長したcDNAをKIAA1491 complete cDNA (配列番号7) と称し、該メチオニンまでのアミノ酸配列を含む完全長のKIAA1491をKIAA1491 complete (配列番号1) と称する。

(JNK3によるc-Junのリン酸化に対するKIAA1491 completeの作用解析)

<材料>

KIAA1491 completeは、N末端GST融合蛋白質 (以下、GST-KIAA1491 complete) として大腸菌にて発現後、グルタチオン セファロース 4B (Glutathione sepharose 4B, Amersham Pharmacia biotech社) で精製して使用した。

すなわち、ヒト脳cDNAを鋳型として、KIAA1491 complete cDNAのORF領域をPCRにより増幅後、ゲートウェイクロニングテクノロジー (Invitrogen社) を用いてpDEST15ベクター (Invitrogen社) に組み込み、大腸菌用GST-KIAA1491 complete発現ベクターを構築した。

当該ベクターを大腸菌BL21-SI株 (Invitrogen社) に導入後、100 μ g/ml のアンピシリンを含むLBON培地中 (NaClを含まないLB培地) にて37℃で培養後、NaClを終濃度0.3Mとなるように添加し、さらに25℃で培養してGST-KIAA1491 completeの発現を誘導した。菌体を回収して抽出液を調整し、Glutathione sepharose 4Bを用いてGST-KIAA1491 completeを精製した。精製蛋白質は透析後に使用した。

活性化型ヒトJNK3は、N末端ヒスチジンタグ (His-tag) 付加蛋白質 (以下、His-JNK3) として調製した。まず、ヒト海馬cDNAライブ

ラリーを鋳型としてRT-PCRにより得たヒトJNK3 (JNK3 α 1) cDNAを、pFASTBAC HT (Invitrogen社) に挿入し、添付の説明書に従い、His-JNK3発現用組換えバキュロウイルスを作製した。次に、作製した組換えウイルスをSf9細胞に感染させてHis-JNK3を発現させ、プロボンドレジン (Probond Resin) (Invitrogen社) で精製して使用した。

c-Junのインビトロリン酸化実験には、c-Junの代わりにc-JunのN末端79アミノ酸領域からなるペプチド [c-Jun (1-79)] を用いた。c-Jun (1-79) は、N末端GST融合蛋白質 [以下、GST-c-Jun (1-79)] として大腸菌 (E. coli) にて発現後、Glutathione sepharose 4B (Amersham Pharmacia biotech社) で精製して使用した。

<インビトロリン酸化実験 (In vitro kinase assay)>

15 1 μ gの各GST融合タンパク質 (GST-KIAA1491 complete、GST-c-Jun (1-79)、またはGST) と活性化型JNK3 (0、14、28または70 ng) を、5 μ Ciの [γ - 32 P] ATP (3000 Ci /mmol、NEN社) を含むカイネーションバッファー (25mM Tris-HCl, pH7.5 / 5mM β -グリセロホスフェート (glycerophosphate) / 2mM ジチオスレイトール (dithiothreitol、DTT) / 0.1mM Na₃VO₄ / 10mM MgCl₂ / 10 μ M ATP) 中にて30℃で30分間インキュベーションすることにより、リン酸化反応を行った。反応後、等量の2×SDS サンプルバッファー [4% SDS / 125mM Tris-HCl, pH6.8 / 20% グリセロール (glycerol) / 0.01% ブロムフェノールブルー (BPB) / 10% β -メルカプトエタノール (mercaptoethanol)] を加え、100℃で5分間処理した後、5-20% SDS-PAGEにより蛋白質を分離し、BAS

2000 (Fuji film社) を用いたオートラジオグラフィーによりリン酸化蛋白質を検出した (第2図Aおよび第2図B)。

1 μ g の GST-c-Jun (1-79) と活性化型 JNK3 (70 ng) を、GST または GST-KIAA1491 complete (共に 1 μ g または 2
5 μ g) の存在下または非存在下で、100 μ M の ATP を含むカイネーションバッファー中にて 30℃ で 20 分間インキュベーションすることにより、リン酸化反応を行った。反応後、等量の 2×SDS サンプルバッファーを加え、100℃ で 5 分間処理した後、上清を 10% SDS-PAGE により分離し、1 次抗体として抗リン酸化 c-Jun (S63) 抗体 (anti-Phospho-c-Jun (S63) antibody、New England Biolabs
10 社) を、2 次抗体としてホースラディッシュ・パーオキシダーゼ結合抗ウサギ IgG 抗体 (HRP-conjugated anti-rabbit IgG antibody、Amersham pharmacia biotech 社) を用いたイムノブロッティングによりリン酸化された GST-c-Jun (1-79) を検出した (第3図)。検出には ECL ウェスタンブロッティング ディテクションキット (Amersham pharmacia biotech 社) を使用した。さらに、検出されたリン酸化 GST-c-Jun (1-79) のバンド強度を画像解析ソフト、Intelligent Quantifier (Bio Image 社) を用いて定量し、GST または GST-KIAA1491 complete 存在下でのバンド強度を、非存在下での強度を 100% とした
15 ときの相対強度で示した (表1)。

<結果>

JNK3 により c-Jun および GST-KIAA1491 complete がリン酸化された (第2図Aおよび第2図B)。また、このリン酸化が JNK3 の
25 用量依存的であった (第2図B) ことから、GST-KIAA1491 complete のリン酸化は自己リン酸化ではなく JNK3 によるものであることが明らかになった。このことから、JNK3 と KIAA1491 complete と

が相互作用することが判明した。

また、第3図および表1に示したように、 $1\mu\text{g}$ または $2\mu\text{g}$ のGST-KIAA1491 complete存在下では、JNK3によるGST-c-Jun (1-79) のリン酸化が約30%阻害された。一方、陰性コントロールである GST存在下ではJNK3によるGST-c-Jun (1-79) のリン酸化に変化はなかった。これらから、JNK3によるGST-c-Jun (1-79) のリン酸化がKIAA1491 completeにより阻害されることが明らかになった。

10 表1

添加した蛋白質	添加量 (μg)	相対強度 (%)
なし		100
GST	1.0	92.7
	2.0	93.6
GST-KIAA1491 complete	1.0	71.5
	2.0	67.1

実施例2

(JNK3と相互作用する蛋白質のインシリコでの探索)

JNK3と相互作用する蛋白質を、実施例1と同様にインシリコで予測した。

15 その結果、JNK3由来の6アミノ酸残基からなるオリゴペプチドSLFPAD (配列番号13) と相同性あるオリゴペプチドSLPPAD (配列番号14) が、機能未知の蛋白質KIAA0596 (GenBank、アクセッション番号: AB011168) のアミノ酸配列中に存在することが分かった。第4図に、JNK3とKIAA0596とのローカルアライメントの結果を示した。

20 (JNK3によるc-Junのリン酸化に対するKIAA0596の作用解析)

KIAA0596は、JNK3と結合することが報告されているマウスJNK

結合蛋白質1 (JNKBP1、非特許文献4) (GenBank、アクセッション
番号: AB029482) と74%の相同性を示すことが判明した。マウスJN
KBP1は、そのC末端領域がJNK3との結合に必要であることが知られてい
る。そこで、KIAA0596のC末端領域(アミノ酸配列第639~1217
5 番目、以後KIAA0596CTと呼ぶ)とJNK3との結合をファー・ウエス
タン(Far-western)法により解析した。さらに、活性化JNK3の
c-Junリン酸化へのKIAA0596CTの作用を試験した。

<材料>

結合試験に用いたヒトJNK3は、N末端マルトース結合蛋白質との融合蛋白
10 質(MBP-JNK3)として調製した。まず、ヒト海馬cDNAライブラリー
を鋳型としてRT-PCRにより得たヒトJNK3(JNK3 α 1)cDNAを、
pMAL-c2(New England BioLabs社)に挿入し、添付
の説明書に従い、MBP-JNK3発現ベクターを構築した。当該ベクターを大
腸菌DH5 α 株に導入し、MBP-JNK3の発現を誘導した。菌体を回収して
15 抽出液を調整し、アミロース・レジン(amylose resin)を用いて
MBP-JNK3を精製した。精製蛋白質は透析後に使用した。

リン酸化試験に用いた活性化型ヒトJNK3は、N末端His-tag付加蛋
白質(His-JNK3)として、実施例1と同様に調製した。

ヒトKIAA0596CTは、N末端GST融合蛋白質(以下、GST-KI
20 AA0596CT)として大腸菌にて発現後、Glutathione sep
harose 4B(Amersham Pharmacia biotech
社)で精製して使用した。

すなわち、まずKIAA0596クローン(かずさDNA研究所より入手)を
鋳型としてKIAA0596の塩基配列第1916番目から第3655番目まで
25 の領域をPCRにより増幅後、ゲートウェイクローニングテクノロジー(Invi
trogen社)を用いてpDEST15ベクター(Invitrogen社)
に組み込み、大腸菌用GST-KIAA0596CT発現ベクターを構築した。得

n v i t r o g e n 社) に組み込み、大腸菌用 G S T - K I A A 0 5 9 6 C T 発現ベクターを構築した。

当該ベクターを大腸菌 B L 2 1 - S I 株 (I n v i t r o g e n 社) に導入後、
1 0 0 μ g / m l のアンピシリンを含む L B O N 培地中 (N a C l を含まない L
5 B 培地) にて 3 7 $^{\circ}$ C で培養後、N a C l を終濃度 0 . 3 M となるように添加し、
さらに 2 5 $^{\circ}$ C で培養して G S T - K I A A 0 5 9 6 C T の発現を誘導した。菌体
を回収して抽出液を調整し、G l u t a t h i o n e s e p h a r o s e 4
B を用いて G S T - K I A A 0 5 9 6 C T を精製した。精製蛋白質は透析後に使用した。

10 < 結合試験 >

ニトロセルロースメンブレン (S c h l e i c h e r & S c h u e l l 社、
B A 8 5) 上に 1 μ g の G S T または G S T - K I A A 0 5 9 6 C T をスポット
した後、メンブレンを 5 % スキムミルクを含む T B S T (1 0 m M T r i s
- H C l , p H 7 . 5 / 0 . 1 5 M N a C l / 0 . 0 5 % T w e e n 2 0)
15 中にて室温でインキュベーションした。メンブレンを T B S T でリンスした後、
1 . 0 μ g / m l の M B P - J N K 3 または M B P を含む T B S T 中にて 4 $^{\circ}$ C で
一晚インキュベーションした。メンブレンを T B S T で洗浄後、1 次抗体として
抗 M B P 抗血清 (N e w E n g l a n d B i o l a b s 社)、2 次抗体として
ホースラディッシュ・パーオキシダーゼ結合抗ウサギ I g G 抗体 (A m e r s h
20 a m p h a r m a c i a b i o t e c h 社) を用いたイムノブロッティング
により、結合した M B P - J N K 3 を検出した (第 5 図)。なお、検出には E C L
ウエスタンブロッティング・ディテクション・キット (A m e r s h a m p h
a r m a c i a b i o t e c h 社) を使用した。

25 < インビトロ リン酸化実験 (I n v i t r o k i n a s e a s s a y) >

1 μ g の G S T - c - J u n (1 - 7 9) と活性化型 J N K 3 (7 0 n g) を、
G S T または G S T - K I A A 0 5 9 6 C T (共に 1 μ g または 2 μ g) の存在

下または非存在下で、 $100\mu\text{M}$ のATPを含むカイネーションバッファー (25mM Tris-HCl , $\text{pH}7.5$ / $5\text{mM } \beta\text{-glycerophosphate}$ / 2mM DTT / $0.1\text{mM Na}_3\text{VO}_4$ / 10mM MgCl_2) 中にて 30°C で30分間インキュベーションすることにより、リン酸化反応を行った。反応後、等量の $2\times\text{SDS}$ サンプルバッファー ($4\% \text{SDS}$ / 125mM Tris-HCl , $\text{pH}6.8$ / $20\% \text{glycerol}$ / $0.01\% \text{BPB}$ / $10\% \beta\text{-mercaptoethanol}$) を加え、 100°C で5分間処理した後、上清を $10\% \text{SDS-PAGE}$ により分離し、1次抗体として抗リン酸化c-Jun (S63) 抗体 (New England Biolabs 社) を、2次抗体としてホースラディッシュ・パーオキシダーゼ結合抗ウサギ IgG 抗体 (Amersham pharmacia biotech 社) を用いたイムノブロッティングによりリン酸化されたGST-c-Jun (1-79) を検出した (第6図)。検出にはECLウエスタンブロッティング・ディテクション・キット (Amersham pharmacia biotech 社) を使用した。さらに、検出されたリン酸化GST-c-Jun (1-79) のバンド強度を画像解析ソフト、Intelligent Quantifier (Bio Image 社) を用いて定量し、GSTまたはGST-KIAA0596CT存在下でのバンド強度を、非存在下での強度を 100% としたときの相対強度で示した (表2)。

<結果>

第5図に示したように、GST-KIAA0596CTとMBP-JNK3との結合が認められた。しかし、GST-KIAA0596CTとMBPとの結合、およびGSTとMBP-JNK3との結合は認められなかったことから、検出されたGST-KIAA0596CTとMBP-JNK3との結合は特異的であることが確認された。

さらに、第6図および表2に示したように、 $1\mu\text{g}$ または $2\mu\text{g}$ のKIAA0596CT存在下では、JNK3によるGST-c-Jun (1-79) のリン

酸化がそれぞれ約30%または約67%阻害された。一方、陰性コントロールであるGST存在下ではJNK3によるGST-c-Jun(1-79)のリン酸化に変化はなかった。これらから、JNK3によるGST-c-Jun(1-79)のリン酸化がKIAA0596CTにより用量依存的に阻害されることが明らかになった。

表 2

添加した蛋白質	添加量 (μ g)	相対強度 (%)
なし		100
GST	1.0	92.7
	2.0	93.6
GST-KIAA0596CT	1.0	70.6
	2.0	33.5

実施例 3

10 (JNK3と相互作用する蛋白質のインシリコでの探索)

JNK3と相互作用する蛋白質を、実施例1と同様にインシリコで予測した。この結果、JNK3由来の6アミノ酸残基からなるオリゴペプチドKVIEQL(配列番号15)と相溶性あるオリゴペプチドKVKEQL(配列番号16)が、サーカディアンリズムに関連する蛋白質BMAL1のアミノ酸配列中に存在することが分かった。また、BMAL1と相同な蛋白質BMAL2のアミノ酸配列中にもオリゴペプチドKVKEQL(配列番号16)が存在することが分かった。第7図および第8図に、それぞれJNK3とBMAL1およびJNK3とBMAL2とのローカルアライメントの結果を示した。ローカルアライメントにおいて25.0以上のスコアを示すフラグメントは、JNK3とBMAL1との間で7個、JNK3とBMAL2との間で4個見出された。この結果から、JNK3はBMAL2よりもBMAL1に強く相互作用する蛋白質であると予測された。

(JNK3によるc-Junのリン酸化に対するBMAL1の作用解析)

<材料>

活性化型ヒトJNK3は、N末端ヒスチジンタグ付加蛋白質(His-JNK3)として実施例1と同様に調製した。

5 c-Jun(1-79)は、N末端GST融合蛋白質〔以下、GST-c-Jun(1-79)〕として実施例1と同様に調製した。

ヒトBMAL1は、N末端GST融合蛋白質(以下、GST-BMAL1)として大腸菌にて発現後、Glutathione sepharose 4B(Amersham Pharmacia biotech社)で精製して使用した。

10 本実施例においては、BMAL1としてBMAL1b(配列番号4)を用いた。

すなわち、まず、C末端V5/His-tag付加ヒトBMAL1発現プラスミド、pcDNA3.1-BMAL1/V5-His(Invitrogen社)からBMAL1のORF領域をPCRにより増幅後、pGEX-4T(Amersham Pharmacia biotech社)に挿入し、大腸菌用GST-BMAL1発現ベクターを構築した。得られた塩基配列(配列番号9)は、ダイレクトシーケンシング法により常法に従って確認した。

次に、上記発現ベクターを導入した大腸菌BL21株を100 μ g/mlのアンピシリンを含むLB培地中にて37 $^{\circ}$ Cで培養後、イソプロピル1-チオ- β -D-ガラクトシド(IPTG)を終濃度0.3mMとなるように添加し、さらに25 $^{\circ}$ Cで培養後、菌体を回収した。この菌体から、プロテアーゼ阻害剤カクテルを含むTGEDSバッファー〔50mM Tris-HCl, pH8.0/0.2mM エチレンジアミン四酢酸(EDTA)/1mM DTT/150mM NaCl/10% glycerol〕を用いて、抽出液を調製し、Glutathione sepharose 4BによりGST-BMAL1を精製した。

25 精製したGST-BMAL1はTGEDSバッファー/0.1% Triton X-100で透析後に使用した。

<インビトロ リン酸化実験(In vitro kinase assay)>

>

1 μ g の上記各GST融合蛋白質 [GST-BMAL1、GST-c-Jun
(1-79) またはGST] と活性化型JNK3 (70 ng) を、5 μ Ci の [γ -³²P] ATP (3000 Ci/mmol、NEN社) を含むカイネーションバ
5 ュッファー (25mM Tris-HCl, pH7.5 / 5mM β -glycero
phosphate / 2mM DTT / 0.1mM Na₃VO₄ / 10mM
MgCl₂ / 10 μ M ATP) 中にて30℃で30分間インキュベーションす
ることにより、リン酸化反応を行った。反応後、等量の2×SDS サンプルバ
10 ュッファー [4% SDS / 125mM Tris-HCl, pH6.8 / 20%
glycerol / 0.01% BPB / 10% β -mercaptoeth
anol] を加え、100℃で5分間処理した後、5-20% SDS-PAGE
により蛋白質を分離し、BAS2000 (Fuji film社) を用いたオー
トララジオグラフィーによりリン酸化蛋白質を検出した (第9図B)。また、用い
た各GST融合蛋白質 (1 μ g) を5-20% SDS-PAGEにより分離後、
15 CBB染色を行うことにより、目的蛋白質の移動度を確認した (第9図A)。なお、
GST-BMAL1 リン酸化反応におけるJNK3の用量依存性を確認する場合
は、反応系に加える活性化型JNK3を0 ng、14 ng、28 ngおよび70
ngとし、以下同様の方法にてリン酸化蛋白質を検出した (第10図)。

次に、1 μ g のGST-c-Jun (1-79) と活性化型JNK3 (70 ng
20 g) を、GSTまたはGST-BMAL1 (共に1 μ gまたは2 μ g) の存在下
若しくは非存在下で、100 μ MのATPを含むカイネーションバッファー中に
て30℃で20分間インキュベーションすることによりリン酸化反応を行った。
反応後、上記同様にサンプルバッファーで処理し、上清を10%SDS-PAGE
により分離し、1次抗体として抗リン酸化c-Jun抗体 (New Engl
25 and Biolabs社) を、2次抗体としてホースラディッシュ・パーオキ
シダーゼ結合抗ウサギIgG抗体 (Amersham pharmacia b
iotech社) を用いたイムノブロッティングによりリン酸化されたGST-

c-Jun (1-79) を検出した (第 11 図)。検出には ECL ウェスタンブロッ
ティング・ディテクション・キット (Amersham pharmacia
biotech 社) を使用した。さらに、検出されたリン酸化 GST-c-Jun
(1-79) のバンド強度を画像解析ソフト、Intelligent Qu
5 antifier (Bio Image 社) を用いて定量し、GST または GS
T-BMAL1 存在下でのバンド強度を、非存在下での強度を 100% としたと
きの相対強度で示した (表 3)

<結果>

第 9 図 B に示したように、JNK3 による GST-c-Jun (1-79) の
10 リン酸化が認められた。一方、陰性コントロールである GST においてはリン酸
化が認められなかったことから、本実施例で用いた実験系が JNK3 の活性を測
定する上で妥当であることが確認された。この実験系において、JNK3 による
GST-BMAL1 のリン酸化が認められた。また、このリン酸化が JNK3 の
用量依存的であったことから、GST-BMAL1 のリン酸化は自己リン酸化で
15 はなく JNK3 によるものであることが明らかになった (第 10 図)。これらから、
JNK3 と BMAL1 とが相互作用することが判明した。

また、第 11 図および表 3 に示したように、1 μ g または 2 μ g の GST-B
MAL1 の存在下では、JNK3 による GST-c-Jun (1-79) のリン
酸化がそれぞれ約 5% または約 15% にまで低減した。一方、GST 存在下では
20 JNK3 による GST-c-Jun (1-79) のリン酸化に変化はなかった。
これらから、JNK3 による GST-c-Jun (1-79) のリン酸化が BM
AL1 により阻害されることが明らかになった。

(以下余白)

表 3

添加した蛋白質	添加量 (μ g)	相対強度 (%)
なし		100
GST	1.0	92.7
	2.0	93.6
GST-BMAL1	1.0	15.3
	2.0	4.7

実施例 4

(JNK3 と相互作用する蛋白質のインシリコでの探索)

5 JNK3 と相互作用する蛋白質を、実施例 1 と同様にインシリコで予測した。

この結果、JNK3 由来の 6 アミノ酸残基からなるオリゴペプチド LPPSSS (配列番号 17) および ANLCQV (配列番号 18) と相同性あるオリゴペプチド LPPSSN (配列番号 19) および AVL CQV (配列番号 20) が、ホロカルボキシラーゼ合成酵素である BPL1 のアミノ酸配列中に存在することが分かった。第 12 図に、JNK3 と BPL1 とのローカルアライメントの結果を示した。ローカルアライメントにおいて 25.0 以上のスコアを示すフラグメントは、JNK3 と BPL1 との間で 8 個見出された。この結果から、JNK3 と BPL1 は相互作用する蛋白質であることが予測された。

(JNK3 による c-Jun のリン酸化に対する BPL1 の作用解析)

15 <材料>

活性化型ヒト JNK3 は、N 末端ヒスチジンタグ付加蛋白質 (His-JNK3) として実施例 1 と同様に調製した。

c-Jun (1-79) は、N 末端 GST 融合蛋白質 [以下、GST-c-Jun (1-79)] として実施例 1 と同様に調製した。

20 ヒト BPL1 は、N 末端 GST 融合蛋白質 (以下、GST-BPL1) として大腸菌にて発現後、Glutathione sepharose 4B (Am

ersham Pharmacia biotech社)で精製して使用した。
本実施例においては、BPL1として配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチドを用いた。

すなわち、まず、C末端V5/His-tag付加ヒトBPL1発現プラスミ
ド、pcDNA3.1-BPL1/V5-His (Invitrogen社)からBPL1のORF領域をPCRにより増幅後、pGEX-4T (Amersham Pharmacia biotech社)に挿入し、大腸菌用GST-BPL1発現ベクターを構築した。得られた塩基配列(配列番号10)は、ダイレクトシーケンシング法により常法に従って確認した。

次に、上記発現ベクターを導入した大腸菌BL21株を100 μ g/mlのア
ンピシリンを含むLB培地中にて37°Cで培養後、IPTGを終濃度0.1mM
となるように添加し、さらに25°Cで培養後、菌体を回収した。この菌体から、
プロテアーゼ阻害剤カクテルを含むTGEDSバッファー[50mM Tris-
HCl, pH8.0/0.2mM EDTA/1mM DTT/150mM NaCl/10% glycerol]を用いて、抽出液を調製し、Glutathione sepharose 4BによりGST-BPL1を精製した。精
製したGST-BPL1はTGEDSバッファーで透析後に使用した。

<インビトロ リン酸化実験 (In vitro kinase assay)>

1 μ gの各GST融合タンパク質[GST-BPL1、GST-c-Jun(1-79)またはGST]と活性化型JNK3(0、14、28または70ng)を、5 μ Ciの[γ -³²P]ATP(3000Ci/mmol、NEN社)を含むカイネーシオンバッファー(25mM Tris-HCl, pH7.5/5mM glycerophosphate/2mM DTT/0.1mM Na₃VO₄/10mM MgCl₂/10 μ M ATP)中にて30°Cで30分間インキュベーションすることにより、リン酸化反応を行った。反応後、等量の2×SDS サンプルバッファー(4% SDS/125mM Tris-HCl, p

H6. 8/20% glycerol/0.01% BPB/10% β -mercaptoethanol)を加え、100℃で5分間処理した後、5-20% SDS-PAGEにより蛋白質を分離し、BAS2000 (Fuji film 社)を用いたオートラジオグラフィーによりリン酸化蛋白質を検出した。

- 5 次に、1 μ gのGST-c-Jun (1-79)と活性化型JNK3 (70 ng)を、GSTまたはGST-BPL1 (共に1 μ gまたは2 μ g)の存在下または非存在下で、5 μ Ciの [γ - 32 P] ATP (3000 Ci/mmol、NEN社)を含むカイネーションバッファー中にて、30℃で30分間インキュベーションすることにより、リン酸化反応を行った。反応後、等量の2×SDS サンプルバッファーを加え、100℃で5分間処理した後、上清を10%SDS-PAGEにより分離し、1次抗体として抗リン酸化c-Jun (S63)抗体 (New England Biolabs社)を、2次抗体としてホースラディッシュ・パーオキシダーゼ結合抗ウサギIgG抗体 (Amersham pharmac
- 10 macia biotech社)を用いたイムノブロットティングによりリン酸化されたGST-c-Jun (1-79)を検出した (第13図)。検出にはECL
- 15 ウェスタンブロットティング・ディテクション・キット (Amersham pharmacia biotech社)を使用した。さらに、検出されたリン酸化GST-c-Jun (1-79)のバンド強度を画像解析ソフト、Intelligent Quantifier (Bio Image社)を用いて定量し、
- 20 GSTまたはGST-BPL1存在下でのバンド強度を、非存在下での強度を100%としたときの相対強度で示した (表4)。

<結果>

- JNK3によりGST-BPL1のリン酸化が認められた。また、このリン酸化がJNK3の用量依存的であったことから、GST-BPL1のリン酸化は自己リン酸化ではなくJNK3によるものであることが明らかになった。このこと
- 25 から、JNK3とBPL1とが相互作用することが判明した。

第13図および表4に示したように、1 μ gまたは2 μ gのGST-BPL1

の存在下では、JNK 3によるGST-c-Jun (1-79) のリン酸化がそれぞれ約20%または約40%阻害された。一方、GST存在下ではJNK 3によるGST-c-Jun (1-79) のリン酸化に変化はなかった。これらから、JNK 3によるGST-c-Jun (1-79) のリン酸化がBPL 1により用

5 量依存的に阻害されることが明らかになった。

表 4

添加した蛋白質	添加量 (μ g)	相対強度 (%)
なし		100
GST	1.0	92.7
	2.0	93.6
GST-BPL 1	1.0	81.6
	2.0	59.7

10 産業上の利用可能性

本発明においては、JNK 3と相互作用する機能を有するKIAA1491 complete (配列番号1)、KIAA0596CT (配列番号2)、KIAA0596 (配列番号3)、BMAL 1、およびBPL 1を見出し、これらによってJNK 3によるc-Junのリン酸化の阻害を可能にした。c-Junはトランス

15 スアクチベーターであり転写活性化能を有することが知られている。また、神経細胞死が認められる疾患、例えばポリグルタミン病やアルツハイマー病、においてJNK 3の関与が認められている。したがって、JNK 3と相互作用する機能を有するKIAA1491 complete (配列番号1)、KIAA0596CT (配列番号2)、KIAA0596 (配列番号3)、BMAL 1、またはBPL

20 1のうちの1つまたは2つ以上を用いてJNK 3によるc-Junのリン酸化を阻害することにより、c-Junの転写活性化能を抑制することができ、さらに

は JNK 3 による c-Jun のリン酸化により引き起こされる生理的現象、例えばアポトーシスを抑制することが可能と考えられる。

これらのことから本発明は、JNK 3 と相互作用する機能を有する KIAA 1491 complete (配列番号 1)、KIAA 0596 CT (配列番号 2)、
5 KIAA 0596 (配列番号 3)、BMAL 1、BPL 1、またはこれらに由来するペプチドを利用して、c-Jun リン酸化の阻害、c-Jun の機能 (例えば転写活性化能等) の阻害、アポトーシス抑制 (例えば神経細胞等のアポトーシス抑制)、さらに神経変性疾患等 (例えばポリグルタミン病やアルツハイマー病等) の防止および/または治療に用いる薬剤および医薬組成物並びにその方法を提供
10 可能であり、また JNK シグナル経路およびその機能の研究のために非常に有用である。

配列表フリーテキスト

配列番号 11 : JNK 3 と KIAA 1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。
15

配列番号 12 : JNK 3 と KIAA 1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA 1491 の部分オリゴペプチド。

配列番号 13 : JNK 3 のアミノ酸配列中に存在する連続する 6 アミノ酸残基からなるペプチド。

20 配列番号 14 : 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列からなるペプチドと高い相同性を有する KIAA 0596 (配列番号 3) の部分ペプチド。

配列番号 15 : JNK 3 のアミノ酸配列中に存在する連続する 6 アミノ酸残基からなるペプチド。

25 配列番号 16 : 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列からなるペプチドと高い相同性を有する BMAL 1 または BMAL 2 の部分ペプチド。

配列番号 17 : JNK 3 のアミノ酸配列中に存在する連続する 6 アミノ酸残基からなるペプチド。

配列番号 18 : JNK3 のアミノ酸配列中に存在する連続する 6 アミノ酸残基からなるペプチド。

配列番号 19 : 配列番号 13 に記載のアミノ酸配列からなるペプチドと高い相同性を有する BPL1 の部分ペプチド。

5 配列番号 20 : 配列番号 14 に記載のアミノ酸配列からなるペプチドと高い相同性を有する BPL1 の部分ペプチド。

配列番号 21 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

10 配列番号 22 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA1491 の部分オリゴペプチド。

配列番号 23 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 24 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA1491 の部分オリゴペプチド。

15 配列番号 25 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) の配列において一致する部分配列。

配列番号 26 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

20 配列番号 27 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA1491 の部分オリゴペプチド。

配列番号 28 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) の配列において一致する部分配列。

配列番号 29 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

25 配列番号 30 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA1491 の部分オリゴペプチド。

配列番号 31 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) の配列において一

致する部分配列。

配列番号 32 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

5 配列番号 33 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA1491 の部分オリゴペプチド。

配列番号 34 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 35 : JNK3 と KIAA1491 (配列番号 6) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA1491 の部分オリゴペプチド。

10 配列番号 36 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 37 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA0596 の部分オリゴペプチド。

15 配列番号 38 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 39 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA0596 の部分オリゴペプチド。

配列番号 40 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

20 配列番号 41 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA0596 の部分オリゴペプチド。

配列番号 42 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

25 配列番号 43 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA0596 の部分オリゴペプチド。

配列番号 44 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 45 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA0596 の部分オリゴペプチド。

配列番号 46 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

5 配列番号 47 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA0596 の部分オリゴペプチド。

配列番号 48 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

10 配列番号 49 : JNK3 と KIAA0596 (配列番号 3) とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した KIAA0596 の部分オリゴペプチド。

配列番号 50 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 51 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL1 の部分オリゴペプチド。

15 配列番号 52 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 53 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL1 の部分オリゴペプチド。

20 配列番号 54 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 55 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 56 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

25 配列番号 57 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 58 : JNK3 と BMAL1 とのローカルアライメントにおいて高い

スコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 59 : JNK 3 と BMAL 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL 1 の部分オリゴペプチド。

5 配列番号 60 : JNK 3 と BMAL 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 61 : JNK 3 と BMAL 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL 1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 62 : JNK 3 と BMAL 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。

10 配列番号 63 : JNK 3 と BMAL 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL 1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 64 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。

15 配列番号 65 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL 2 の部分オリゴペプチド。

配列番号 66 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 67 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL 2 の部分オリゴペプチド。

20 配列番号 68 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 69 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL 2 の部分オリゴペプチド。

25 配列番号 70 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 71 : JNK 3 と BMAL 2 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BMAL 2 の部分オリゴペプチド。

配列番号 7 2 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した J N K 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 7 3 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した B P L 1 の部分オリゴペプチド。

- 5 配列番号 7 4 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した J N K 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 7 5 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した B P L 1 の部分オリゴペプチド。

- 10 配列番号 7 6 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した J N K 3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 7 7 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した B P L 1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 7 8 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した J N K 3 の部分オリゴペプチド。

- 15 配列番号 7 9 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した B P L 1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 8 0 : J N K 3 と B P L 1 の配列において一致する部分配列。

配列番号 8 1 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した J N K 3 の部分オリゴペプチド。

- 20 配列番号 8 2 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した B P L 1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 8 3 : J N K 3 と B P L 1 の配列において一致する部分配列。

配列番号 8 4 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した J N K 3 の部分オリゴペプチド。

- 25 配列番号 8 5 : J N K 3 と B P L 1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した B P L 1 の部分オリゴペプチド。

配列番号 8 6 : J N K 3 と B P L 1 の配列において一致する部分配列。

配列番号 87 : JNK3 と BPL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 88 : JNK3 と BPL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BPL1 の部分オリゴペプチド。

5 配列番号 89 : JNK3 と BPL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した JNK3 の部分オリゴペプチド。

配列番号 90 : JNK3 と BPL1 とのローカルアライメントにおいて高いスコアを示した BPL1 の部分オリゴペプチド。

請求の範囲

1. c-Jun N末端キナーゼ 3 と相互作用する機能を有する下記ペプチド群から選ばれる 1 つまたは 2 つ以上のペプチドを有効成分として含んでなる c-Jun のリン酸化阻害剤 ;

(i) BMAL 1、

(ii) BPL 1、

(iii) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(iv) 配列表の配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列表の配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vi) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドを含むペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(vii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも 5 個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(viii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列において 1 個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(ix) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドと 70 % 以上の相同性を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(x) 配列表の配列番号 4 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

および

(xi) 配列表の配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

2. ペプチド群が (i)、(ii)、(iii)、(iv)、(x) および (xi) からなるペプチド群である請求の範囲第1項に記載の c-Jun のリン酸化阻害剤。
3. c-Jun N末端キナーゼ3 (JNK3) と相互作用する機能を有する下記ペプチド群から選ばれる1つまたは2つ以上のペプチドを JNK3 と共存させることを含む c-Jun のリン酸化阻害方法 ;
 - (i) BMAL1、
 - (ii) BPL1、
 - (iii) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
 - (iv) 配列表の配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
 - 10 (v) 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
 - (vi) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドを含むペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、
 - (vii) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも5個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、
 - 15 (viii) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、
 - 20 (ix) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドと70%以上の相同性を有するペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、
 - 25 (x) 配列表の配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
および
 - (xi) 配列表の配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

4. ペプチド群が (i)、(ii)、(iii)、(iv)、(x) および (xi) からなるペプチド群である請求の範囲第3項に記載の c-Jun のリン酸化阻害方法。
5. c-Jun N末端キナーゼ3と相互作用する機能を有する下記ペプチド群から選ばれる1つまたは2つ以上のペプチドを有効成分として含んでなる c-Jun の転写活性化能の阻害剤；
- 5 (i) BMAL1、
- (ii) BPL1、
- (iii) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (iv) 配列表の配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- 10 (v) 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (vi) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドを含むペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、
- (vii) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも5個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペ
- 15 プチド、
- (viii) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペ
- 20 プチド、
- (ix) 前記 (i) から (v) の何れか1つのペプチドと70%以上の相同性を有するペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、
- 25 (x) 配列表の配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- および
- (xi) 配列表の配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

6. c-Jun N末端キナーゼ3 (JNK3) と相互作用する機能を有する下記ペプチド群から選ばれる1つまたは2つ以上のペプチドとJNK3とを共存させることを含むc-Junの転写活性化能の阻害方法;

(i) BMAL1、

(ii) BPL1、

(iii) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(iv) 配列表の配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vi) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドを含むペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(vii) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも5個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(viii) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(ix) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドと70%以上の相同性を有するペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(x) 配列表の配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、および

(xi) 配列表の配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

7. 請求の範囲第1項または第2項に記載のc-Junのリン酸化阻害剤または請求の範囲第5項に記載のc-Junの転写活性化能の阻害剤を有効量

含んでなる医薬組成物。

8. c-Jun N末端キナーゼ3によるc-Junのリン酸化に基づく疾患の防止剤および／または治療剤である請求の範囲第7項に記載の医薬組成物。

- 5 9. c-Jun N末端キナーゼ3 (JNK3) と相互作用する機能を有する下記ペプチド群から選ばれる1つまたは2つ以上のペプチドを有効量含んでなる、JNK3によるc-Junのリン酸化に基づく疾患の防止剤および／または治療剤である医薬組成物；

(i) BMAL1、

10 (ii) BPL1、

(iii) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(iv) 配列表の配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

15 (vi) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドを含むペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(vii) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも5個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

20

(viii) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドのアミノ酸配列において1個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

25

(ix) 前記(i)から(v)の何れか1つのペプチドと70%以上の相同性を有するペプチドであってJNK3によるc-Junのリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(x) 配列表の配列番号 4 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
および

(xi) 配列表の配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

10. c-Jun N末端キナーゼ 3 (JNK3) と相互作用する機能を有する
5 下記ペプチド群から選ばれる何れか 1 つのペプチドをコードするポリヌク
レオチドの 1 つまたは 2 つ以上を有効量含んでなる、JNK3 による c-
Jun のリン酸化に基づく疾患の防止剤および/または治療剤である医薬
組成物；

(i) BMAL1、

10 (ii) BPL1、

(iii) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(iv) 配列表の配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列表の配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

15 (vi) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドを含むペプチドであ
って JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有する
ペプチド、

20 (vii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列のう
ち少なくとも 5 個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであっ
て JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペ
プチド、

(viii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列にお
いて 1 個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであっ
て JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペ
プチド、

25 (ix) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドと 70%以上の相同
性を有するペプチドであって JNK3 による c-Jun のリン酸化
を阻害する機能を有するペプチド、

(x) 配列表の配列番号 4 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
および

(xi) 配列表の配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

11. c-Jun N末端キナーゼ 3 による c-Jun のリン酸化に基づく疾患
5 が神経変性疾患である請求の範囲第 8 項から第 10 項の何れか 1 項に記載
の医薬組成物。
12. 神経変性疾患が、ポリグルタミン病、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、
球脊髄性筋萎縮症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、アルツハイマー病、
10 ダウン症、パーキンソン病、Lewy 小体型痴呆症、多系統萎縮症、家族
性筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、pick
病、ファミリアル ブリティッシュ デメンチア (familial B
ritish dementia)、クロイツフェルトーヤコブ (Creu
tzfeldt-Jakob) 病、ゲルストマンーストランスラー (Ge
rstmann-Strassler) 症候群、狂牛病 (ウシ海綿状脳
15 症) (BSE)、またはニューロセルピン (neuroserpin) 封入
体を伴う家族性痴呆症である請求の範囲第 11 項に記載の医薬組成物。
13. c-Jun N末端キナーゼ 3 (JNK3) と相互作用する機能を有する
下記ペプチド群から選ばれる 1 つまたは 2 つ以上のペプチドを JNK3 と
共存させることを含む、JNK3 による c-Jun のリン酸化に基づく疾
20 患の防止方法および／または治療方法；
- (i) BMAL1、
(ii) BPL1、
(iii) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
(iv) 配列表の配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
25 (v) 配列表の配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
(vi) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドを含むペプチドであ
って JNK3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有する

ペプチド、

(vii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも 5 個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(viii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列において 1 個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(ix) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドと 70% 以上の同一性を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(x) 配列表の配列番号 4 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

および

(xi) 配列表の配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

14. c-Jun N末端キナーゼ 3 (JNK 3) と相互作用する機能を有する下記ペプチド群から選ばれる何れか 1 つのペプチドをコードするポリヌクレオチドの 1 つまたは 2 つ以上を用いて、該ポリヌクレオチドがコードするペプチドを発現させることにより JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害することを含む、JNK 3 による c-Jun のリン酸化に基づく疾患の防止方法および/または治療方法；

(i) BMAL 1、

(ii) BPL 1、

(iii) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(iv) 配列表の配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列表の配列番号 3 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vi) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドを含むペプチドであ

って JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(vii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列のうち少なくとも 5 個の連続するアミノ酸残基からなるペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(viii) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドのアミノ酸配列において 1 個ないし数個のアミノ酸残基の変異を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(ix) 前記 (i) から (v) の何れか 1 つのペプチドと 70% 以上の相同性を有するペプチドであって JNK 3 による c-Jun のリン酸化を阻害する機能を有するペプチド、

(x) 配列表の配列番号 4 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
および

(xi) 配列表の配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド。

15. 請求の範囲第 7 項から第 12 項の何れか 1 項に記載の医薬組成物を使用することを特徴とする c-Jun N 末端キナーゼ 3 による c-Jun のリン酸化に基づく疾患の防止方法および／または治療方法。

20 16. c-Jun N 末端キナーゼ 3 による c-Jun のリン酸化に基づく疾患が神経変性疾患である請求の範囲第 13 項から第 15 項の何れか 1 項に記載の疾患の防止方法および／または治療方法。

25 17. 神経変性疾患が、ポリグルタミン病、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、球脊髄性筋萎縮症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、アルツハイマー病、ダウン症、パーキンソン病、Lewy 小体型痴呆症、多系統萎縮症、家族性筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、pick 病、ファミリアル ブリティッシュ デメンチア (familial B

ritish dementia)、クロイツフェルトーヤコブ (Creutzfeldt-Jakob) 病、ゲルストマンーストランスラー (Gerstmann-Strausler) 症候群、狂牛病 (ウシ海綿状脳症) (BSE)、またはニューロセルピン (neuroserpin) 封入体に伴う家族性痴呆症である前記 16 項に記載の疾患の防止方法および/または治療方法。

18. 下記ペプチド群から選ばれる何れか 1 つのペプチド;

- (i) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (ii) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるペプチドを含むペプチド、
- (iii) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列の少なくとも 5 個の連続するアミノ酸残基からなるペプチド、

および

- (iv) 前記 (i) から (iii) の何れかのペプチドにおいて 1 個ないし数個のアミノ酸の変異を有するペプチド。

19. c-Jun N末端キナーゼ 3 と相互作用する機能を有する請求の範囲第 18 項に記載のペプチド。

20. 請求の範囲第 18 項または第 19 項に記載のペプチドをコードする塩基配列またはその相補的配列を含むポリヌクレオチド。

21. 配列表の配列番号 7 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド。

22. 請求の範囲第 20 項または第 21 項に記載のポリヌクレオチドとストリンジエントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド。

23. 請求の範囲第 20 項から第 22 項の何れか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含有する組換えベクター。

24. 組換えベクターが組換え発現ベクターである請求の範囲第 23 項に記載の組換えベクター。

25. 請求の範囲第 23 項または第 24 項に記載の組換えベクターを導入されて

なる形質転換体。

26. 請求の範囲第 2 4 項に記載の組換えベクターを導入されてなる形質転換体を培養する工程を含む請求の範囲第 1 8 項または第 1 9 項に記載のペプチドの製造方法。
- 5 27. 請求の範囲第 1 8 項または第 1 9 項に記載のペプチドを免疫学的に認識する抗体。
28. 請求の範囲第 1 9 項に記載のペプチドと c - J u n N 末端キナーゼ 3 との相互作用を促進するまたは阻害する化合物の同定方法であって、該ペプチド、該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換えベクターを導入されてなる形質転換体および該ペプチドを免疫学的に認識する抗体から選ばれる少なくとも 1 つを用いることを特徴とする同定方法。
- 10
29. 請求の範囲第 1 9 項に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現を促進するまたは阻害する化合物の同定方法であって、該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換えベクターを導入されてなる形質転換体および該ペプチドを免疫学的に認識する抗体から選ばれる少なくとも 1 つを用いることを特徴とする同定方法。
- 15
30. 請求の範囲第 1 9 項に記載のペプチド、該ペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換えベクターを導入されてなる形質転換体および該ペプチドを免疫学的に認識する抗体から選ばれる少なくとも 1 つを有効量含んでなる医薬組成物。
- 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

第1図

>Score = 38.1

413 QPSPGAAVNSSESLPPSSSVNDISSMSTDQTL (配列番号21)
 374 QSSATFSTAATSVSSSASSGVSLSSSMNTANSL (配列番号22)
 Q S S S SS V SSM T L

>Score = 35.3

415 SPGAAVNSSESLPPSSSVNDISSMSTDQTLASDTSSLEASA (配列番号23)
 382 AATSVSSSASSGVSLSSSMNTANSLCLGGTPASASSSSSRAAP (配列番号24)
 S SSS N S T AS SS A

>Score = 25.7

22 QGFDKQ (配列番号11)
 662 QTFDKQ (配列番号12)
 Q FDKQ (配列番号25)

>Score = 26.1

181 HSAGI IHRDLKPSN (配列番号26)
 39 HPTTTTSWDLKPPT (配列番号27)
 H DLKP (配列番号28)

>Score = 26.1

416 PSGAAVNSSESLPPSSSVNDISSMSTDQTL (配列番号29)
 265 PYQSPVSSSES-APGTIMNGHGGGRSQTL (配列番号30)
 P V SSES P N QTL (配列番号31)

>Score = 25.8

417 SGAAVNSSESLPPSSSVNDISSMSTDQTLASDT (配列番号32)
 328 TGDLTSSPLSQLSSSLSSHQSSLSAHAALSSST (配列番号33)
 G S S SS SS S L S T

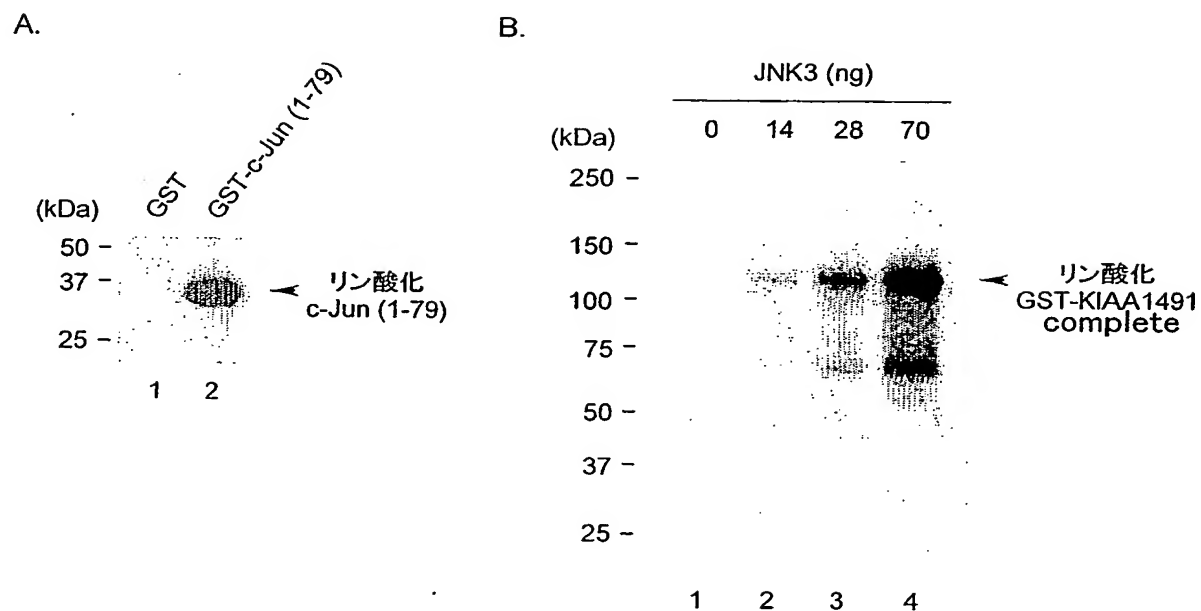
>Score = 26.5

414 PSPSGAAVNSSESLPPSSSVNDISSMSTDQTLAS-DTDSSLEASA (配列番号34)
 333 SSPLSQLSSSLSSHQSSLSAHAALSSSTSHTHASVESASSHQSSA (配列番号35)
 SP S S S S S ST T AS SS SA

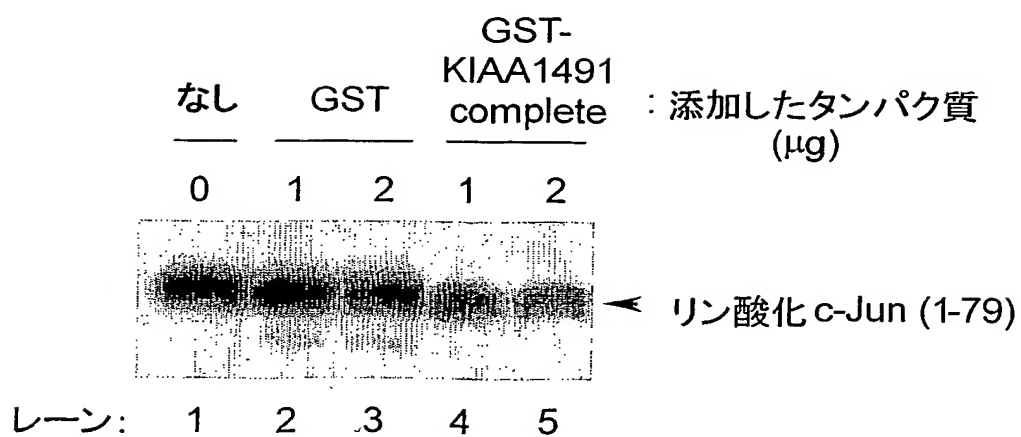
THIS PAGE BLANK (USPTO)

2/10

第2図



第3図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

第4図

>Score = 35.0

413	QPSPSGAAVNSS	ESLPPSSSVNDI	SSMSTDQ	(配列番号36)
1091	QPPPPEKTPNPM	ECKTPGAALSQD	SAVSLEQ	(配列番号37)
	QP P	N E P	S S Q	

>Score = 25.9

130	FTPQKTLEE	(配列番号38)
262	YSLQQTLE	(配列番号39)
	Q TL E	

>Score = 26.4

199	SDCTLKILDFGL	ARTAGTSF	(配列番号40)
386	SDKNLSIFDFSS	GECVATMF	(配列番号41)
	SD L I DF	T F	

>Score = 25.6

326	KLKASQARDLL	SKML	(配列番号42)
242	KLLASASRDRL	IHLV	(配列番号43)
	KL AS RD L	L	

>Score = 25.2

316	SLFPADSEHNKL	KASQARDLLSK	(配列番号44)
906	SLVPQERHEASL	QAPSPGALLSR	(配列番号45)
	SL P	A LLS	

>Score = 25.9

387	IEEWKEL-IYKE	VMNSEE	(配列番号46)
94	LDKWVELRVY	PEVKDSNQ	(配列番号47)
	W EL Y EV	S	

>Score = 26.7

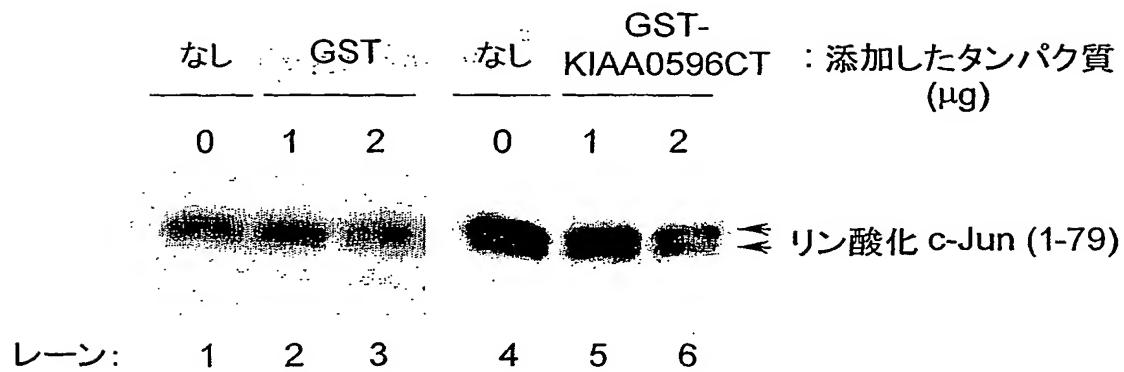
437	SSMSTDQTLAS	DTD	(配列番号48)
480	SMLSPGPALSS	DSD	(配列番号49)
	S S L SD	D	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

第 5 図



第 6 図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

5/10

第7図

>Score = 28.2

40 SKSKVDNQFYVSVEVG DSTFTVLK
352 TREKITTNCYKFKIKDGSFITLR
K Y D F L

(配列番号50)

(配列番号51)

>Score = 28.0

53 VGDSTFTVLKRYQN
129 VSESVFKILNYSQN
V S F L QN

(配列番号52)

(配列番号53)

>Score = 28.8

277 EQLGTPCPEF
324 ELLGTSCYEY
E LGT C E

(配列番号54)

(配列番号55)

>Score = 26.1

437 SSMSTDQTLASDTSSLEASAG
548 SSPSNDEAAMAVIMSLLEADAG
SS S D S LEA AG

(配列番号56)

(配列番号57)

>Score = 25.6

199 SDCTLKILDF
130 SESVFKILNY
S KIL

(配列番号58)

(配列番号59)

>Score = 26.1

268 YIDQWNKVIE
380 FMNPWTKEVE
W K E

(配列番号60)

(配列番号61)

>Score = 25.2

410 VKGQPSPSGAA
161 VKEQLSSSDTA
VK Q S S A

(配列番号62)

(配列番号63)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

第8図

>Score = 31.4

402 EEKTKNGVVKGQPSPSGA AVNSSESLPPSSS
503 DDSSPTGLMKDTHTVNCRSMSNKELFPPSPS
G K E PPS S

(配列番号64)

(配列番号65)

>Score = 28.8

277 EQLGTPCPEF
364 ELLGTSCYEY
E LGT C E

(配列番号66)

(配列番号67)

>Score = 27.0

40 SKSKVDNQFY SVEVG DSTFTVLK
392 SKEKILTD SYKFR AKDGSFVTLK
SK K Y D F LK

(配列番号68)

(配列番号69)

>Score = 25.4

40 SKSKVDNQFY SV
269 SKKKEHRKFYTI
SK K FY

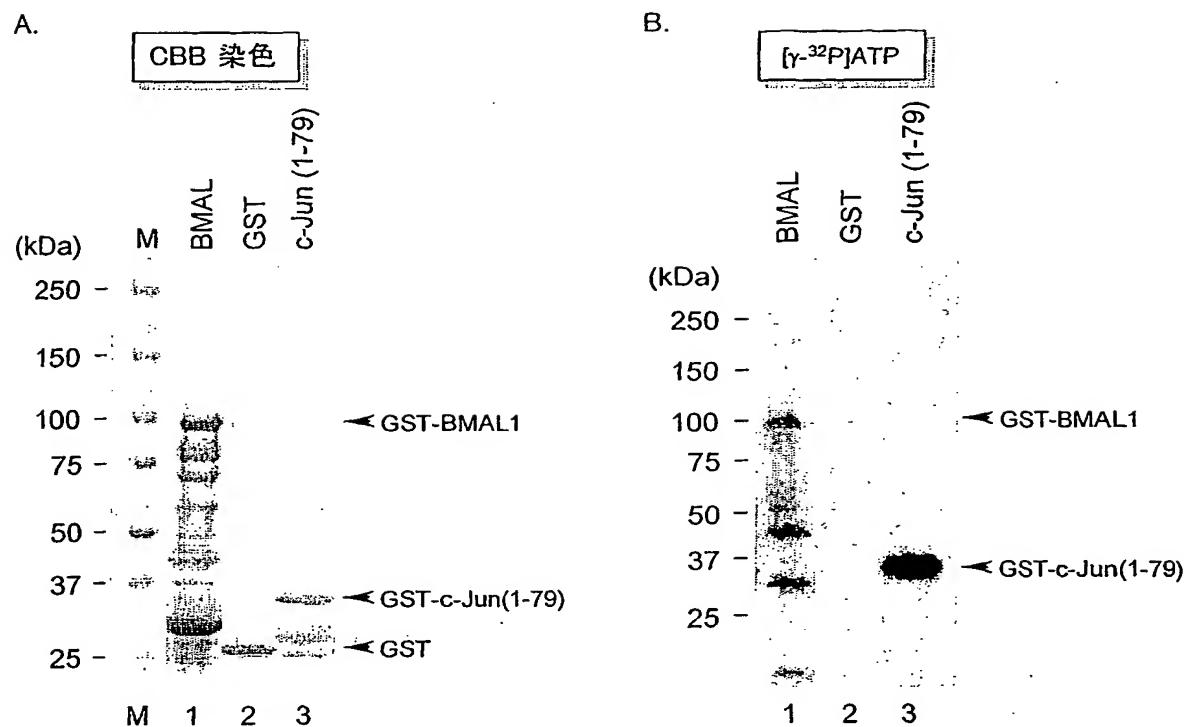
(配列番号70)

(配列番号71)

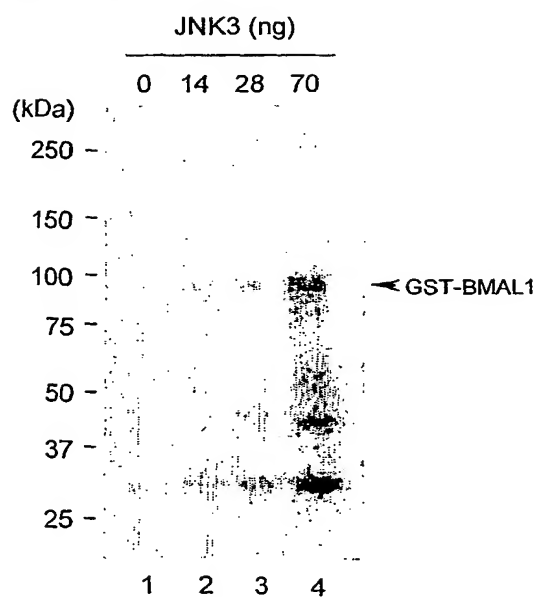
THIS PAGE BLANK (USPTO)

7/10

第9図

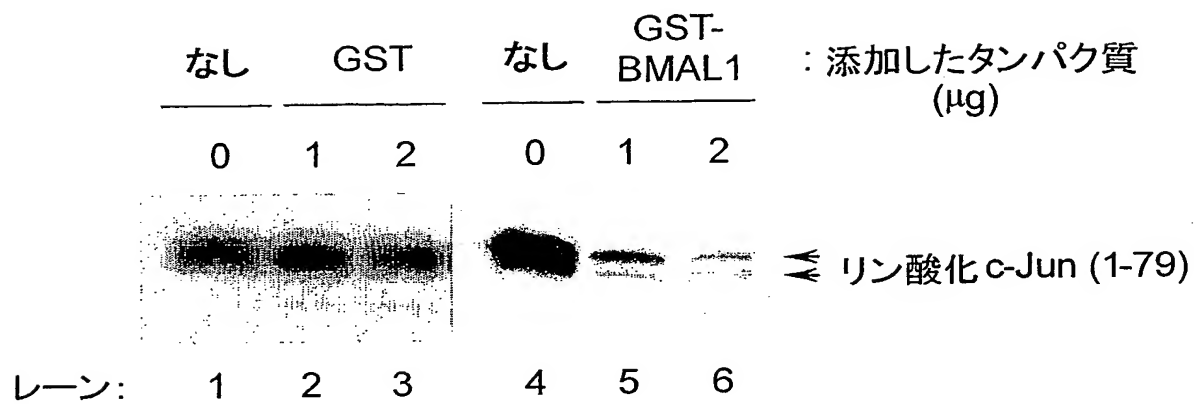


第10図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

第11図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

第 1 2 図

>Score = 30.9

167 SYLLYQML	(配列番号72)
216 SYILYHLL	(配列番号73)
SY LY L	

>Score = 27.7

10 SEPTLDVK	(配列番号74)
67 PEPSLEIK	(配列番号75)
EP L K	

>Score = 28.2

186 IHRDLKPSNIVVKS	(配列番号76)
355 VHLELPPSSNIVQT	(配列番号77)
H L PS V	

>Score = 26.2

133 QKTLEEFQD	(配列番号78)
667 EKLIKEFQD	(配列番号79)
K EFQD	(配列番号80)

>Score = 26.8

150 DANLCQVIQMEL	(配列番号81)
349 EAVLCQV-HLEL	(配列番号82)
A LCQV EL	(配列番号83)

>Score = 27.1

427 LPPSSSV	(配列番号84)
359 LPPSSNI	(配列番号85)
LPPSS	(配列番号86)

>Score = 25.1

132 POKTLEEFQDVYLV	(配列番号87)
194 SQEALGRFHEVRSVL	(配列番号88)
Q L F V V	

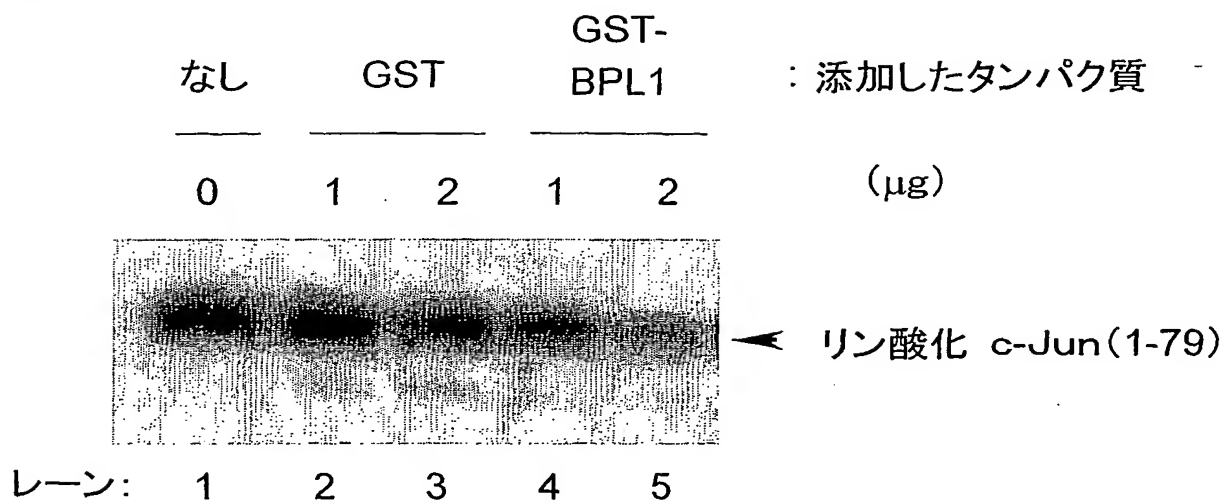
>Score = 25.1

134 KTLLEEFQDVYL	(配列番号89)
576 RSIPEYQDINL	(配列番号90)
E QD L	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10/10

第13図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

SEQUENCE LISTING

<110> CELESTAR LEXICO-SCIENCES, INC.
DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.

<120> c-Jun phosphorylation inhibitor

<130> GP03-1004PCT

<150> JP P2002-095291

<151> 2002-03-29

<150> JP P2002-095390

<151> 2002-03-29

<150> JP P2002-095442

<151> 2002-03-29

<150> JP P2002-095486

<151> 2002-03-29

<160> 90

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 786

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Pro Gly Thr Gly Ser Ser Thr Ala Val Asn Ser Cys Ser Pro
1 5 10 15

Gln Ser Leu Ser Ser Val Leu Gly Ser Gly Phe Gly Glu Leu Ala Pro
20 25 30

Pro Lys Met Ala Asn Ile Thr Ser Ser Gln Ile Leu Asp Gln Leu Lys
35 40 45

Ala Pro Ser Leu Gly Gln Phe Thr Thr Thr Pro Ser Thr Gln Gln Asn
50 55 60

Ser Thr Ser His Pro Thr Thr Thr Thr Ser Trp Asp Leu Lys Pro Pro
65 70 75 80

Thr Ser Gln Ser Ser Val Leu Ser His Leu Asp Phe Lys Ser Gln Pro
85 90 95

Glu Pro Ser Pro Val Leu Ser Gln Leu Ser Gln Arg Gln Gln His Gln
100 105 110

2/55

Ser Gln Ala Val Thr Val Pro Pro Pro Gly Leu Glu Ser Phe Pro Ser
115 120 125

Gln Ala Lys Leu Arg Glu Ser Thr Pro Gly Asp Ser Pro Ser Thr Val
130 135 140

Asn Lys Leu Leu Gln Leu Pro Ser Thr Thr Ile Glu Asn Ile Ser Val
145 150 155 160

Ser Val His Gln Pro Gln Pro Lys His Ile Lys Leu Ala Lys Arg Arg
165 170 175

Ile Pro Pro Ala Ser Lys Ile Pro Ala Ser Ala Val Glu Met Pro Gly
180 185 190

Ser Ala Asp Val Thr Gly Leu Asn Val Gln Phe Gly Ala Leu Glu Phe
195 200 205

Gly Ser Glu Pro Ser Leu Ser Glu Phe Gly Ser Ala Pro Ser Ser Glu
210 215 220

Asn Ser Asn Gln Ile Pro Ile Ser Leu Tyr Ser Lys Ser Leu Ser Glu
225 230 235 240

Pro Leu Asn Thr Ser Leu Ser Met Thr Ser Ala Val Gln Asn Ser Thr
245 250 255

Tyr Thr Thr Ser Val Ile Thr Ser Cys Ser Leu Thr Ser Ser Ser Leu
260 265 270

Asn Ser Ala Ser Pro Val Ala Met Ser Ser Ser Tyr Asp Gln Ser Ser
275 280 285

Val His Asn Arg Ile Pro Tyr Gln Ser Pro Val Ser Ser Ser Glu Ser
290 295 300

Ala Pro Gly Thr Ile Met Asn Gly His Gly Gly Gly Arg Ser Gln Gln
305 310 315 320

Thr Leu Asp Thr Pro Lys Thr Thr Gly Pro Pro Ser Ala Leu Pro Ser
325 330 335

3/55

Val Ser Ser Leu Pro Ser Thr Thr Ser Cys Thr Ala Leu Leu Pro Ser
 340 345 350

Thr Ser Gln His Thr Gly Asp Leu Thr Ser Ser Pro Leu Ser Gln Leu
 355 360 365

Ser Ser Ser Leu Ser Ser His Gln Ser Ser Leu Ser Ala His Ala Ala
 370 375 380

Leu Ser Ser Ser Thr Ser His Thr His Ala Ser Val Glu Ser Ala Ser
 385 390 395 400

Ser His Gln Ser Ser Ala Thr Phe Ser Thr Ala Ala Thr Ser Val Ser
 405 410 415

Ser Ser Ala Ser Ser Gly Val Ser Leu Ser Ser Ser Met Asn Thr Ala
 420 425 430

Asn Ser Leu Cys Leu Gly Gly Thr Pro Ala Ser Ala Ser Ser Ser Ser
 435 440 445

Ser Arg Ala Ala Pro Leu Val Thr Ser Gly Lys Ala Pro Pro Asn Leu
 450 455 460

Pro Gln Gly Val Pro Pro Leu Leu His Asn Gln Tyr Leu Val Gly Pro
 465 470 475 480

Gly Gly Leu Leu Pro Ala Tyr Pro Ile Tyr Gly Tyr Asp Glu Leu Gln
 485 490 495

Met Leu Gln Ser Arg Leu Pro Val Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Phe Ala
 500 505 510

Ala Pro Thr Ala Leu Ala Ser Arg Asp Arg Ser Leu Ala Asn Asn Pro
 515 520 525

Tyr Pro Gly Asp Val Thr Lys Phe Gly Arg Gly Asp Ser Ala Ser Pro
 530 535 540

Ala Pro Ala Thr Thr Pro Ala Gln Pro Gln Gln Ser Gln Ser Gln Thr
 545 550 555 560

His His Thr Ala Gln Gln Pro Phe Val Asn Pro Ala Leu Pro Pro Gly
 565 570 575

Tyr Ser Tyr Thr Gly Leu Pro Tyr Tyr Thr Gly Met Pro Ser Ala Phe
580 585 590

Gln Tyr Gly Pro Thr Met Phe Val Pro Pro Ala Ser Ala Lys Gln His
595 600 605

Gly Val Asn Leu Ser Thr Pro Thr Pro Pro Phe Gln Gln Ala Ser Gly
610 615 620

Tyr Gly Gln His Gly Tyr Ser Thr Gly Tyr Asp Asp Leu Thr Gln Gly
625 630 635 640

Thr Ala Ala Gly Asp Tyr Ser Lys Gly Gly Tyr Ala Gly Ser Ser Gln
645 650 655

Ala Pro Asn Lys Ser Ala Gly Ser Gly Pro Gly Lys Gly Val Ser Val
660 665 670

Ser Ser Ser Thr Thr Gly Leu Pro Asp Met Thr Gly Ser Val Tyr Asn
675 680 685

Lys Thr Gln Thr Phe Asp Lys Gln Gly Phe His Ala Gly Thr Pro Pro
690 695 700

Pro Phe Ser Leu Pro Ser Val Leu Gly Ser Thr Gly Pro Leu Ala Ser
705 710 715 720

Gly Ala Ala Pro Gly Tyr Ala Pro Pro Pro Phe Leu His Ile Leu Pro
725 730 735

Ala His Gln Gln Pro His Ser Gln Leu Leu His His His Leu Pro Gln
740 745 750

Asp Ala Gln Ser Gly Ser Gly Gln Arg Ser Gln Pro Ser Ser Leu Gln
755 760 765

Pro Lys Ser Gln Ala Ser Lys Pro Ala Tyr Gly Asn Ser Pro Tyr Trp
770 775 780

Thr Asn
785

5/55

<210> 2
<211> 579
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Leu Ser Gln Glu Glu Gly Val Phe Ala Gln Asp Leu Glu Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ile Glu Asp Gly Ile Val Tyr Pro Glu Pro Ser Asp Asn Pro Thr Met
20 25 30

Asp Thr Ser Glu Phe Gln Val Gln Ala Pro Ala Arg Gly Thr Leu Gly
35 40 45

Arg Val Tyr Pro Gly Ser Arg Ser Ser Glu Lys His Ser Pro Asp Ser
50 55 60

Ala Cys Ser Val Asp Tyr Ser Ser Ser Cys Leu Ser Ser Pro Glu His
65 70 75 80

Pro Thr Glu Asp Ser Glu Ser Thr Glu Pro Leu Ser Val Asp Gly Ile
85 90 95

Ser Ser Asp Leu Glu Glu Pro Ala Glu Gly Asp Glu Glu Glu Glu
100 105 110

Glu Glu Gly Gly Met Gly Pro Tyr Gly Leu Gln Glu Gly Ser Pro Gln
115 120 125

Thr Pro Asp Gln Glu Gln Phe Leu Lys Gln His Phe Glu Thr Leu Ala
130 135 140

Ser Gly Ala Ala Pro Gly Ala Pro Val Gln Val Pro Glu Arg Ser Glu
145 150 155 160

Ser Arg Ser Ile Ser Ser Arg Phe Leu Leu Gln Val Gln Thr Arg Pro
165 170 175

Leu Arg Glu Pro Ser Pro Ser Ser Ser Ser Leu Ala Leu Met Ser Arg
180 185 190

Pro Ala Gln Val Pro Gln Ala Ser Gly Glu Gln Pro Arg Gly Asn Gly
195 200 205

6/55

Ala Asn Pro Pro Gly Ala Pro Pro Glu Val Glu Pro Ser Ser Gly Asn
210 215 220

Pro Ser Pro Gln Gln Ala Ala Ser Val Leu Leu Pro Arg Cys Arg Leu
225 230 235 240

Asn Pro Asp Ser Ser Trp Ala Pro Lys Arg Val Ala Thr Ala Ser Pro
245 250 255

Phe Ser Gly Leu Gln Lys Ala Gln Ser Val His Ser Leu Val Pro Gln
260 265 270

Glu Arg His Glu Ala Ser Leu Gln Ala Pro Ser Pro Gly Ala Leu Leu
275 280 285

Ser Arg Glu Ile Glu Ala Gln Asp Gly Leu Gly Ser Leu Pro Pro Ala
290 295 300

Asp Gly Pro Pro Ser Arg Pro His Ser Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Ser
305 310 315 320

Ser Met Ala Lys Ile Ser Arg Ser Ile Ser Val Gly Glu Asn Leu Gly
325 330 335

Leu Val Ala Glu Pro Gln Ala His Ala Pro Ile Arg Val Ser Pro Leu
340 345 350

Ser Lys Leu Ala Leu Pro Ser Arg Ala His Leu Val Leu Asp Ile Pro
355 360 365

Lys Pro Leu Pro Asp Arg Pro Thr Leu Ala Ala Phe Ser Pro Val Thr
370 375 380

Lys Gly Arg Ala Pro Gly Glu Ala Glu Lys Pro Gly Phe Pro Val Gly
385 390 395 400

Leu Gly Lys Ala His Ser Thr Thr Glu Arg Trp Ala Cys Leu Gly Glu
405 410 415

Gly Thr Thr Pro Lys Pro Arg Thr Glu Cys Gln Ala His Pro Gly Pro
420 425 430

Ser Ser Pro Cys Ala Gln Gln Leu Pro Val Ser Ser Leu Phe Gln Gly

7/55

435

440

445

Pro Glu Asn Leu Gln Pro Pro Pro Pro Glu Lys Thr Pro Asn Pro Met
 450 455 460

Glu Cys Thr Lys Pro Gly Ala Ala Leu Ser Gln Asp Ser Ala Val Ser
 465 470 475 480

Leu Glu Gln Cys Glu Gln Leu Val Ala Glu Leu Arg Gly Ser Val Arg
 485 490 495

Gln Ala Val Arg Leu Tyr His Ser Val Ala Gly Cys Lys Met Pro Ser
 500 505 510

Ala Glu Gln Ser Arg Ile Ala Gln Leu Leu Arg Asp Thr Phe Ser Ser
 515 520 525

Val Arg Gln Glu Leu Glu Ala Val Ala Gly Ala Val Leu Ser Ser Pro
 530 535 540

Gly Ser Ser Pro Gly Ala Val Gly Ala Glu Gln Thr Gln Ala Leu Leu
 545 550 555 560

Glu Gln Tyr Ser Glu Leu Leu Leu Arg Ala Val Glu Arg Arg Met Glu
 565 570 575

Arg Lys Leu

<210> 3
 <211> 1217
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 3

Ser Asn Lys Val Ser Ser Arg Val Thr Ala Val Ser Phe Ser Glu Asp
 1 5 10 15

Cys Ser Tyr Phe Val Thr Ala Gly Asn Arg His Ile Lys Phe Trp Tyr
 20 25 30

Leu Asp Asp Ser Lys Thr Ser Lys Val Asn Ala Thr Val Pro Leu Leu
 35 40 45

8/55

Gly Arg Ser Gly Leu Leu Gly Glu Leu Arg Asn Asn Leu Phe Thr Asp
50 55 60

Val Ala Cys Gly Arg Gly Lys Lys Ala Asp Ser Thr Phe Cys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Ser Gly Leu Leu Cys Glu Phe Ser Asp Arg Arg Leu Leu Asp Lys
85 90 95

Trp Val Glu Leu Arg Val Tyr Pro Glu Val Lys Asp Ser Asn Gln Ala
100 105 110

Cys Leu Pro Pro Ser Ser Phe Ile Thr Cys Ser Ser Asp Asn Thr Ile
115 120 125

Arg Leu Trp Asn Thr Glu Ser Ser Gly Val His Gly Ser Thr Leu His
130 135 140

Arg Asn Ile Leu Ser Ser Asp Leu Ile Lys Ile Ile Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Asn Thr Gln Ala Leu Leu Asp Thr Glu Leu Pro Gly Gly Asp Lys Ala
165 170 175

Asp Ala Ser Leu Leu Asp Pro Arg Val Gly Ile Arg Ser Val Cys Val
180 185 190

Ser Pro Asn Gly Gln His Leu Ala Ser Gly Asp Arg Met Gly Thr Leu
195 200 205

Arg Val His Glu Leu Gln Ser Leu Ser Glu Met Leu Lys Val Glu Ala
210 215 220

His Asp Ser Glu Ile Leu Cys Leu Glu Tyr Ser Lys Pro Asp Thr Gly
225 230 235 240

Leu Lys Leu Leu Ala Ser Ala Ser Arg Asp Arg Leu Ile His Val Leu
245 250 255

Asp Ala Gly Arg Glu Tyr Ser Leu Gln Gln Thr Leu Asp Glu His Ser
260 265 270

Ser Ser Ile Thr Ala Val Lys Phe Ala Ala Ser Asp Gly Gln Val Arg
275 280 285

9/55

Met Ile Ser Cys Gly Ala Asp Lys Ser Ile Tyr Phe Arg Thr Ala Gln
290 295 300

Lys Ser Gly Asp Gly Val Gln Phe Thr Arg Thr His His Val Val Arg
305 310 315 320

Lys Thr Thr Leu Tyr Asp Met Asp Val Glu Pro Ser Trp Lys Tyr Thr
325 330 335

Ala Ile Gly Cys Gln Asp Arg Asn Ile Arg Ile Phe Asn Ile Ser Ser
340 345 350

Gly Lys Gln Lys Lys Leu Phe Lys Gly Ser Gln Gly Glu Asp Gly Thr
355 360 365

Leu Ile Lys Val Gln Thr Asp Pro Ser Gly Ile Tyr Ile Ala Thr Ser
370 375 380

Cys Ser Asp Lys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Phe Ser Ser Gly Glu Cys
385 390 395 400

Val Ala Thr Met Phe Gly His Ser Glu Ile Val Thr Gly Met Lys Phe
405 410 415

Ser Asn Asp Cys Lys His Leu Ile Ser Val Ser Gly Asp Ser Cys Ile
420 425 430

Phe Val Trp Arg Leu Ser Ser Glu Met Thr Ile Ser Met Arg Gln Arg
435 440 445

Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Gln Arg Gly Gly Lys Gln Gln Gly Pro
450 455 460

Ser Ser Pro Gln Arg Ala Ser Gly Pro Asn Arg His Gln Ala Pro Ser
465 470 475 480

Met Leu Ser Pro Gly Pro Ala Leu Ser Ser Asp Ser Asp Lys Glu Gly
485 490 495

Glu Asp Glu Gly Thr Glu Glu Glu Leu Pro Ala Leu Pro Val Leu Ala
500 505 510

10/55

Lys Ser Thr Lys Lys Ala Leu Ala Ser Val Pro Ser Pro Ala Leu Pro
515 520 525

Arg Ser Leu Ser His Trp Glu Met Ser Arg Ala Gln Glu Ser Val Gly
530 535 540

Phe Leu Asp Pro Ala Pro Ala Ala Asn Pro Gly Pro Arg Arg Arg Gly
545 550 555 560

Arg Trp Val Gln Pro Gly Val Glu Leu Ser Val Arg Ser Met Leu Asp
565 570 575

Leu Arg Gln Leu Glu Thr Leu Ala Pro Ser Leu Gln Asp Pro Ser Gln
580 585 590

Asp Ser Leu Ala Ile Ile Pro Ser Gly Pro Arg Lys His Gly Gln Glu
595 600 605

Ala Leu Glu Thr Ser Leu Thr Ser Gln Asn Glu Lys Pro Pro Arg Pro
610 615 620

Gln Ala Ser Gln Pro Cys Ser Tyr Pro His Ile Ile Arg Leu Leu Ser
625 630 635 640

Gln Glu Glu Gly Val Phe Ala Gln Asp Leu Glu Pro Ala Pro Ile Glu
645 650 655

Asp Gly Ile Val Tyr Pro Glu Pro Ser Asp Asn Pro Thr Met Asp Thr
660 665 670

Ser Glu Phe Gln Val Gln Ala Pro Ala Arg Gly Thr Leu Gly Arg Val
675 680 685

Tyr Pro Gly Ser Arg Ser Ser Glu Lys His Ser Pro Asp Ser Ala Cys
690 695 700

Ser Val Asp Tyr Ser Ser Ser Cys Leu Ser Ser Pro Glu His Pro Thr
705 710 715 720

Glu Asp Ser Glu Ser Thr Glu Pro Leu Ser Val Asp Gly Ile Ser Ser
725 730 735

Asp Leu Glu Glu Pro Ala Glu Gly Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu
740 745 750

11/55

Gly Gly Met Gly Pro Tyr Gly Leu Gln Glu Gly Ser Pro Gln Thr Pro
755 760 765

Asp Gln Glu Gln Phe Leu Lys Gln His Phe Glu Thr Leu Ala Ser Gly
770 775 780

Ala Ala Pro Gly Ala Pro Val Gln Val Pro Glu Arg Ser Glu Ser Arg
785 790 795 800

Ser Ile Ser Ser Arg Phe Leu Leu Gln Val Gln Thr Arg Pro Leu Arg
805 810 815

Glu Pro Ser Pro Ser Ser Ser Ser Leu Ala Leu Met Ser Arg Pro Ala
820 825 830

Gln Val Pro Gln Ala Ser Gly Glu Gln Pro Arg Gly Asn Gly Ala Asn
835 840 845

Pro Pro Gly Ala Pro Pro Glu Val Glu Pro Ser Ser Gly Asn Pro Ser
850 855 860

Pro Gln Gln Ala Ala Ser Val Leu Leu Pro Arg Cys Arg Leu Asn Pro
865 870 875 880

Asp Ser Ser Trp Ala Pro Lys Arg Val Ala Thr Ala Ser Pro Phe Ser
885 890 895

Gly Leu Gln Lys Ala Gln Ser Val His Ser Leu Val Pro Gln Glu Arg
900 905 910

His Glu Ala Ser Leu Gln Ala Pro Ser Pro Gly Ala Leu Leu Ser Arg
915 920 925

Glu Ile Glu Ala Gln Asp Gly Leu Gly Ser Leu Pro Pro Ala Asp Gly
930 935 940

Pro Pro Ser Arg Pro His Ser Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Ser Ser Met
945 950 955 960

Ala Lys Ile Ser Arg Ser Ile Ser Val Gly Glu Asn Leu Gly Leu Val
965 970 975

12/55

Ala Glu Pro Gln Ala His Ala Pro Ile Arg Val Ser Pro Leu Ser Lys
 980 985 990

Leu Ala Leu Pro Ser Arg Ala His Leu Val Leu Asp Ile Pro Lys Pro
 995 1000 1005

Leu Pro Asp Arg Pro Thr Leu Ala Ala Phe Ser Pro Val Thr Lys
 1010 1015 1020

Gly Arg Ala Pro Gly Glu Ala Glu Lys Pro Gly Phe Pro Val Gly
 1025 1030 1035

Leu Gly Lys Ala His Ser Thr Thr Glu Arg Trp Ala Cys Leu Gly
 1040 1045 1050

Glu Gly Thr Thr Pro Lys Pro Arg Thr Glu Cys Gln Ala His Pro
 1055 1060 1065

Gly Pro Ser Ser Pro Cys Ala Gln Gln Leu Pro Val Ser Ser Leu
 1070 1075 1080

Phe Gln Gly Pro Glu Asn Leu Gln Pro Pro Pro Pro Glu Lys Thr
 1085 1090 1095

Pro Asn Pro Met Glu Cys Thr Lys Pro Gly Ala Ala Leu Ser Gln
 1100 1105 1110

Asp Ser Ala Val Ser Leu Glu Gln Cys Glu Gln Leu Val Ala Glu
 1115 1120 1125

Leu Arg Gly Ser Val Arg Gln Ala Val Arg Leu Tyr His Ser Val
 1130 1135 1140

Ala Gly Cys Lys Met Pro Ser Ala Glu Gln Ser Arg Ile Ala Gln
 1145 1150 1155

Leu Leu Arg Asp Thr Phe Ser Ser Val Arg Gln Glu Leu Glu Ala
 1160 1165 1170

Val Ala Gly Ala Val Leu Ser Ser Pro Gly Ser Ser Pro Gly Ala
 1175 1180 1185

Val Gly Ala Glu Gln Thr Gln Ala Leu Leu Glu Gln Tyr Ser Glu
 1190 1195 1200

13/55

Leu Leu Leu Arg Ala Val Glu Arg Arg Met Glu Arg Lys Leu
 1205 1210 1215

<210> 4
 <211> 626
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Asp Gln Arg Met Asp Ile Ser Ser Thr Ile Ser Asp Phe Met
 1 5 10 15

Ser Pro Gly Pro Thr Asp Leu Leu Ser Ser Ser Leu Gly Thr Ser Gly
 20 25 30

Val Asp Cys Asn Arg Lys Arg Lys Gly Ser Ser Thr Asp Tyr Gln Glu
 35 40 45

Ser Met Asp Thr Asp Lys Asp Asp Pro His Gly Arg Leu Glu Tyr Thr
 50 55 60

Glu His Gln Gly Arg Ile Lys Asn Ala Arg Glu Ala His Ser Gln Ile
 65 70 75 80

Glu Lys Arg Arg Arg Asp Lys Met Asn Ser Phe Ile Asp Glu Leu Ala
 85 90 95

Ser Leu Val Pro Thr Cys Asn Ala Met Ser Arg Lys Leu Asp Lys Leu
 100 105 110

Thr Val Leu Arg Met Ala Val Gln His Met Lys Thr Leu Arg Gly Ala
 115 120 125

Thr Asn Pro Tyr Thr Glu Ala Asn Tyr Lys Pro Thr Phe Leu Ser Asp
 130 135 140

Asp Glu Leu Lys His Leu Ile Leu Arg Ala Ala Asp Gly Phe Leu Phe
 145 150 155 160

Val Val Gly Cys Asp Arg Gly Lys Ile Leu Phe Val Ser Glu Ser Val
 165 170 175

Phe Lys Ile Leu Asn Tyr Ser Gln Asn Asp Leu Ile Gly Gln Ser Leu

14/55

180

185

190

Phe Asp Tyr Leu His Pro Lys Asp Ile Ala Lys Val Lys Glu Gln Leu
195 200 205

Ser Ser Ser Asp Thr Ala Pro Arg Glu Arg Leu Ile Asp Ala Lys Thr
210 215 220

Gly Leu Pro Val Lys Thr Asp Ile Thr Pro Gly Pro Ser Arg Leu Cys
225 230 235 240

Ser Gly Ala Arg Arg Ser Phe Phe Cys Arg Met Lys Cys Asn Arg Pro
245 250 255

Ser Val Lys Val Glu Asp Lys Asp Phe Pro Ser Thr Cys Ser Lys Lys
260 265 270

Lys Ala Asp Arg Lys Ser Phe Cys Thr Ile His Ser Thr Gly Tyr Leu
275 280 285

Lys Ser Trp Pro Pro Thr Lys Met Gly Leu Asp Glu Asp Asn Glu Pro
290 295 300

Asp Asn Glu Gly Cys Asn Leu Ser Cys Leu Val Ala Ile Gly Arg Leu
305 310 315 320

His Ser His Val Val Pro Gln Pro Val Asn Gly Glu Ile Arg Val Lys
325 330 335

Ser Met Glu Tyr Val Ser Arg His Ala Ile Asp Gly Lys Phe Val Phe
340 345 350

Val Asp Gln Arg Ala Thr Ala Ile Leu Ala Tyr Leu Pro Gln Glu Leu
355 360 365

Leu Gly Thr Ser Cys Tyr Glu Tyr Phe His Gln Asp Asp Ile Gly His
370 375 380

Leu Ala Glu Cys His Arg Gln Val Leu Gln Thr Arg Glu Lys Ile Thr
385 390 395 400

Thr Asn Cys Tyr Lys Phe Lys Ile Lys Asp Gly Ser Phe Ile Thr Leu
405 410 415

15/55

Arg Ser Arg Trp Phe Ser Phe Met Asn Pro Trp Thr Lys Glu Val Glu
420 425 430

Tyr Ile Val Ser Thr Asn Thr Val Val Leu Ala Asn Val Leu Glu Gly
435 440 445

Gly Asp Pro Thr Phe Pro Gln Leu Thr Ala Ser Pro His Ser Met Asp
450 455 460

Ser Met Leu Pro Ser Gly Glu Gly Gly Pro Lys Arg Thr His Pro Thr
465 470 475 480

Val Pro Gly Ile Pro Gly Gly Thr Arg Ala Gly Ala Gly Lys Ile Gly
485 490 495

Arg Met Ile Ala Glu Glu Ile Met Glu Ile His Arg Ile Arg Gly Ser
500 505 510

Ser Pro Ser Ser Cys Gly Ser Ser Pro Leu Asn Ile Thr Ser Thr Pro
515 520 525

Pro Pro Asp Ala Ser Ser Pro Gly Gly Lys Lys Ile Leu Asn Gly Gly
530 535 540

Thr Pro Asp Ile Pro Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Gln Ala Gln Glu
545 550 555 560

Asn Pro Gly Tyr Pro Tyr Ser Asp Ser Ser Ser Ile Leu Gly Glu Asn
565 570 575

Pro His Ile Gly Ile Asp Met Ile Asp Asn Asp Gln Gly Ser Ser Ser
580 585 590

Pro Ser Asn Asp Glu Ala Ala Met Ala Val Ile Met Ser Leu Leu Glu
595 600 605

Ala Asp Ala Gly Leu Gly Gly Pro Val Asp Phe Ser Asp Leu Pro Trp
610 615 620

Pro Leu
625

16/55

<211> 726
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Glu Asp Arg Leu His Met Asp Asn Gly Leu Val Pro Gln Lys Ile
1 5 10 15

Val Ser Val His Leu Gln Asp Ser Thr Leu Lys Glu Val Lys Asp Gln
20 25 30

Val Ser Asn Lys Gln Ala Gln Ile Leu Glu Pro Lys Pro Glu Pro Ser
35 40 45

Leu Glu Ile Lys Pro Glu Gln Asp Gly Met Glu His Val Gly Arg Asp
50 55 60

Asp Pro Lys Ala Leu Gly Glu Glu Pro Lys Gln Arg Arg Gly Ser Ala
65 70 75 80

Ser Gly Ser Glu Pro Ala Gly Asp Ser Asp Arg Gly Gly Gly Pro Val
85 90 95

Glu His Tyr His Leu His Leu Ser Ser Cys His Glu Cys Leu Glu Leu
100 105 110

Glu Asn Ser Thr Ile Glu Ser Val Lys Phe Ala Ser Ala Glu Asn Ile
115 120 125

Pro Asp Leu Pro Tyr Asp Tyr Ser Ser Ser Leu Glu Ser Val Ala Asp
130 135 140

Glu Thr Ser Pro Glu Arg Glu Gly Arg Arg Val Asn Leu Thr Gly Lys
145 150 155 160

Ala Pro Asn Ile Leu Leu Tyr Val Gly Ser Asp Ser Gln Glu Ala Leu
165 170 175

Gly Arg Phe His Glu Val Arg Ser Val Leu Ala Asp Cys Val Asp Ile
180 185 190

Asp Ser Tyr Ile Leu Tyr His Leu Leu Glu Asp Ser Ala Leu Arg Asp
195 200 205

17/55

Pro Trp Thr Asp Asn Cys Leu Leu Leu Val Ile Ala Thr Arg Glu Ser
 210 215 220

Ile Pro Glu Asp Leu Tyr Gln Lys Phe Met Ala Tyr Leu Ser Gln Gly
 225 230 235 240

Gly Lys Val Leu Gly Leu Ser Ser Ser Phe Thr Phe Gly Gly Phe Gln
 245 250 255

Val Thr Ser Lys Gly Ala Leu His Lys Thr Val Gln Asn Leu Val Phe
 260 265 270

Ser Lys Ala Asp Gln Ser Glu Val Lys Leu Ser Val Leu Ser Ser Gly
 275 280 285

Cys Arg Tyr Gln Glu Gly Pro Val Arg Leu Ser Pro Gly Arg Leu Gln
 290 295 300

Gly His Leu Glu Asn Glu Asp Lys Asp Arg Met Ile Val His Val Pro
 305 310 315 320

Phe Gly Thr Arg Gly Gly Glu Ala Val Leu Cys Gln Val His Leu Glu
 325 330 335

Leu Pro Pro Ser Ser Asn Ile Val Gln Thr Pro Glu Asp Phe Asn Leu
 340 345 350

Leu Lys Ser Ser Asn Phe Arg Arg Tyr Glu Val Leu Arg Glu Ile Leu
 355 360 365

Thr Thr Leu Gly Leu Ser Cys Asp Met Lys Gln Val Pro Ala Leu Thr
 370 375 380

Pro Leu Tyr Leu Leu Ser Ala Ala Glu Glu Ile Arg Asp Pro Leu Met
 385 390 395 400

Gln Trp Leu Gly Lys His Val Asp Ser Glu Gly Glu Ile Lys Ser Gly
 405 410 415

Gln Leu Ser Leu Arg Phe Val Ser Ser Tyr Val Ser Glu Val Glu Ile
 420 425 430

Thr Pro Ser Cys Ile Pro Val Val Thr Asn Met Glu Ala Phe Ser Ser
 435 440 445

18/55

Glu His Phe Asn Leu Glu Ile Tyr Arg Gln Asn Leu Gln Thr Lys Gln
450 455 460

Leu Gly Lys Val Ile Leu Phe Ala Glu Val Thr Pro Thr Thr Met Arg
465 470 475 480

Leu Leu Asp Gly Leu Met Phe Gln Thr Pro Gln Glu Met Gly Leu Ile
485 490 495

Val Ile Ala Ala Arg Gln Thr Glu Gly Lys Gly Arg Gly Gly Asn Val
500 505 510

Trp Leu Ser Pro Val Gly Cys Ala Leu Ser Thr Leu Leu Ile Ser Ile
515 520 525

Pro Leu Arg Ser Gln Leu Gly Gln Arg Ile Pro Phe Val Gln His Leu
530 535 540

Met Ser Val Ala Val Val Glu Ala Val Arg Ser Ile Pro Glu Tyr Gln
545 550 555 560

Asp Ile Asn Leu Arg Val Lys Trp Pro Asn Asp Ile Tyr Tyr Ser Asp
565 570 575

Leu Met Lys Ile Gly Gly Val Leu Val Asn Ser Thr Leu Met Gly Glu
580 585 590

Thr Phe Tyr Ile Leu Ile Gly Cys Gly Phe Asn Val Thr Asn Ser Asn
595 600 605

Pro Thr Ile Cys Ile Asn Asp Leu Ile Thr Glu Tyr Asn Lys Gln His
610 615 620

Lys Ala Glu Leu Lys Pro Leu Arg Ala Asp Tyr Leu Ile Ala Arg Val
625 630 635 640

Val Thr Val Leu Glu Lys Leu Ile Lys Glu Phe Gln Asp Lys Gly Pro
645 650 655

Asn Ser Val Leu Pro Leu Tyr Tyr Arg Tyr Trp Val His Ser Gly Gln
660 665 670

19/55

Gln Val His Leu Gly Ser Ala Glu Gly Pro Lys Val Ser Ile Val Gly
 675 680 685

Leu Asp Asp Ser Gly Phe Leu Gln Val His Gln Glu Gly Gly Glu Val
 690 695 700

Val Thr Val His Pro Asp Gly Asn Ser Phe Asp Met Leu Arg Asn Leu
 705 710 715 720

Ile Leu Pro Lys Arg Arg
 725

<210> 6
 <211> 757
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6

Leu Ala Pro Pro Lys Met Ala Asn Ile Thr Ser Ser Gln Ile Leu Asp
 1 5 10 15

Gln Leu Lys Ala Pro Ser Leu Gly Gln Phe Thr Thr Thr Pro Ser Thr
 20 25 30

Gln Gln Asn Ser Thr Ser His Pro Thr Thr Thr Thr Ser Trp Asp Leu
 35 40 45

Lys Pro Pro Thr Ser Gln Ser Ser Val Leu Ser His Leu Asp Phe Lys
 50 55 60

Ser Gln Pro Glu Pro Ser Pro Val Leu Ser Gln Leu Ser Gln Arg Gln
 65 70 75 80

Gln His Gln Ser Gln Ala Val Thr Val Pro Pro Pro Gly Leu Glu Ser
 85 90 95

Phe Pro Ser Gln Ala Lys Leu Arg Glu Ser Thr Pro Gly Asp Ser Pro
 100 105 110

Ser Thr Val Asn Lys Leu Leu Gln Leu Pro Ser Thr Thr Ile Glu Asn
 115 120 125

Ile Ser Val Ser Val His Gln Pro Gln Pro Lys His Ile Lys Leu Ala
 130 135 140

20/55

Lys Arg Arg Ile Pro Pro Ala Ser Lys Ile Pro Ala Ser Ala Val Glu
145 150 155 160

Met Pro Gly Ser Ala Asp Val Thr Gly Leu Asn Val Gln Phe Gly Ala
165 170 175

Leu Glu Phe Gly Ser Glu Pro Ser Leu Ser Glu Phe Gly Ser Ala Pro
180 185 190

Ser Ser Glu Asn Ser Asn Gln Ile Pro Ile Ser Leu Tyr Ser Lys Ser
195 200 205

Leu Ser Glu Pro Leu Asn Thr Ser Leu Ser Met Thr Ser Ala Val Gln
210 215 220

Asn Ser Thr Tyr Thr Thr Ser Val Ile Thr Ser Cys Ser Leu Thr Ser
225 230 235 240

Ser Ser Leu Asn Ser Ala Ser Pro Val Ala Met Ser Ser Ser Tyr Asp
245 250 255

Gln Ser Ser Val His Asn Arg Ile Pro Tyr Gln Ser Pro Val Ser Ser
260 265 270

Ser Glu Ser Ala Pro Gly Thr Ile Met Asn Gly His Gly Gly Gly Arg
275 280 285

Ser Gln Gln Thr Leu Asp Thr Pro Lys Thr Thr Gly Pro Pro Ser Ala
290 295 300

Leu Pro Ser Val Ser Ser Leu Pro Ser Thr Thr Ser Cys Thr Ala Leu
305 310 315 320

Leu Pro Ser Thr Ser Gln His Thr Gly Asp Leu Thr Ser Ser Pro Leu
325 330 335

Ser Gln Leu Ser Ser Ser Leu Ser Ser His Gln Ser Ser Leu Ser Ala
340 345 350

His Ala Ala Leu Ser Ser Ser Thr Ser His Thr His Ala Ser Val Glu
355 360 365

Ser Ala Ser Ser His Gln Ser Ser Ala Thr Phe Ser Thr Ala Ala Thr

21/55

370

375

380

Ser Val Ser Ser Ser Ala Ser Ser Gly Val Ser Leu Ser Ser Ser Met
385 390 395 400

Asn Thr Ala Asn Ser Leu Cys Leu Gly Gly Thr Pro Ala Ser Ala Ser
405 410 415

Ser Ser Ser Ser Arg Ala Ala Pro Leu Val Thr Ser Gly Lys Ala Pro
420 425 430

Pro Asn Leu Pro Gln Gly Val Pro Pro Leu Leu His Asn Gln Tyr Leu
435 440 445

Val Gly Pro Gly Gly Leu Leu Pro Ala Tyr Pro Ile Tyr Gly Tyr Asp
450 455 460

Glu Leu Gln Met Leu Gln Ser Arg Leu Pro Val Asp Tyr Tyr Gly Ile
465 470 475 480

Pro Phe Ala Ala Pro Thr Ala Leu Ala Ser Arg Asp Gly Ser Leu Ala
485 490 495

Asn Asn Pro Tyr Pro Gly Asp Val Thr Lys Phe Gly Arg Gly Asp Ser
500 505 510

Ala Ser Pro Ala Pro Ala Thr Thr Pro Ala Gln Pro Gln Gln Ser Gln
515 520 525

Ser Gln Thr His His Thr Ala Gln Gln Pro Phe Val Asn Pro Ala Leu
530 535 540

Pro Pro Gly Tyr Ser Tyr Thr Gly Leu Pro Tyr Tyr Thr Gly Met Pro
545 550 555 560

Ser Ala Phe Gln Tyr Gly Pro Thr Met Phe Val Pro Pro Ala Ser Ala
565 570 575

Lys Gln His Gly Val Asn Leu Ser Thr Pro Thr Pro Pro Phe Gln Gln
580 585 590

Ala Ser Gly Tyr Gly Gln His Gly Tyr Ser Thr Gly Tyr Asp Asp Leu
595 600 605

22/55

Thr Gln Gly Thr Ala Ala Gly Asp Tyr Ser Lys Gly Gly Tyr Ala Gly
610 615 620

Ser Ser Gln Ala Pro Asn Lys Ser Ala Gly Ser Gly Pro Gly Lys Gly
625 630 635 640

Val Ser Val Ser Ser Ser Thr Thr Gly Leu Pro Asp Met Thr Gly Ser
645 650 655

Val Tyr Asn Lys Thr Gln Thr Phe Asp Lys Gln Gly Phe His Ala Gly
660 665 670

Thr Pro Pro Pro Phe Ser Leu Pro Ser Val Leu Gly Ser Thr Gly Pro
675 680 685

Leu Ala Ser Gly Ala Ala Pro Gly Tyr Ala Pro Pro Pro Phe Leu His
690 695 700

Ile Leu Pro Ala His Gln Gln Pro His Ser Gln Leu Leu His His His
705 710 715 720

Leu Pro Gln Asp Ala Gln Ser Gly Ser Gly Gln Arg Ser Gln Pro Ser
725 730 735

Ser Leu Gln Pro Lys Ser Gln Ala Ser Lys Pro Ala Tyr Gly Asn Ser
740 745 750

Pro Tyr Trp Thr Asn
755

<210> 7
<211> 3006
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 7
atggcaccag ggactggcag ctccactgcc gtcaactcct gtctctcctca gagcctgtca 60
tccgtccttg gctcaggatt tggagagctt gcaccaccaa aaatggcaaa catcaccagc 120
tcccagattt tggaccagtt gaaagctccg agtttgggcc agtttaccac caccccaagt 180
acacagcaga atagtacaag tcacctaca actactactt cttgggacct caagccccca 240
acatcccagt cctcagtcct cagtcacttt gacttcaaat ctcaacctga gccatcccca 300
gttcttagcc agttgagcca gcgacaacag caccagagcc aggcagtcac tgttctcct 360

cctggtttgg agtcctttcc ttcccaggca aaacttcgag aatcaacacc tggagacagt 420
ccctccactg tgaacaagct ttigcagctt ccagcacga ccattgaaaa tatctctgtg 480
tctgtccacc agccacagcc caaacacatc aaacttgcta agcggcggat acccccagct 540
tctaagatcc cagctttctgc agtggaaatg cctggttcag cagatgtcac aggattaaat 600
gtgcagtttg gggctctgga atttgggtca gaaccttctc tctctgaatt tggatcagct 660
ccaagcagtg aaaatagtaa tcagattccc atcagcttgt attcgaagtc tttaagttag 720
cctttgaata catctttatc aatgaccagt gcagtacaga actccacata tacaacttcc 780
gtcattacct cctgcagtct gacaagctca tcactgaatt ctgctagtcc agtagcaatg 840
tcttctctt atgaccagag ttctgtgcat aacaggatcc cataccaaag ccctgtgagt 900
tcacagagt cagctccagg aaccatcatg aatggacatg gtggtggtcg aagtcagcag 960
aactagaca ctccaaagac aacaggccct cctctgccc tccgtctgt gagctccctg 1020
cccagcacca cctcctgcac tgcacttctg ccgtccacat ccagcacac tggcgacctg 1080
actagcagcc ctctctctca gcttagcagt tcgctctcca gccaccagag cagcctctct 1140
gcacatgcag ccctctctc gagcacgtca cacacacatg ccagtgtgga gagcgctct 1200
tcccaccagt cctcagccac cttctccacg gcagcgacct ccgtctcaag ttccgcatcc 1260
tcaggcgtca gcctgtccag tagcatgaac accggaaca gcctctgtct ggggtgggacc 1320
cccgcgagtg catccagcag cagtagcagg gccgcgccct tggtagctc aggcaaagca 1380
ccccaaact tacctcaggg ggtgcctccc ctgctgcaca accagtacct cgtaggctccc 1440
ggaggactgc ttctgccta cccgatctat ggctatgacg agctccagat gctgcagtca 1500
cggctgccag tggactacta tggaattccc tttgtgcac ccacagcgt tgcagccga 1560
gatgggagcc tagctaataa tccatatcca ggtgatgtca caaagtttgg ccgtggggac 1620
tgtcatccc ctgcaccgc taccacacca gctcagccac agcagagcca atcacagacc 1680
caccacacag ccagcagcc cttcgtgaat cctgcactgc cacctggcta tagctacact 1740
ggtcttcct actacacagg catgcccagt gccttcagat atggcccccac catgtttgtc 1800
cctccagcct cagccaagca acatggggtg aacctcagca ctccacacc tcccttcag 1860
caggccagtg gttatggcca gcacggctac agtacaggtt atgacacct gaccagggg 1920
acagcagcag gagactactc caaagtggtc tatgttgat catcgaggc accaaacaag 1980
tctgcaggtt ctgggcctgg caaaggagta tcagtgtctt caagcaccac tggctacct 2040
gatatgactg gttctgtcta caataagaca cagacttttg acaagcaggg atttcatgca 2100

gggacgcctc cacctttcag cctgccctcg gtcttgggct ccactgggcc cctggcctcg 2160
 ggagcggccc ctggctatgc accccaccca ttctacaca tcttgccagc ccaccagcag 2220
 cccactcac agctgctgca ccaccacctt ccgcaggatg cacagagtgg ctcggtcag 2280
 cgcagccagc ccagctccct gcagcccaag tctcaagcct ccaaacctgc ctacggcaac 2340
 tctccatact ggacaaacta aaccagaag agaggggtgg gctggggcaa ggcttattcct 2400
 gggcaggaga gaacacacga gcacgtatctt gggagcccag tgccctttcc tagaattccc 2460
 gacatgtgtc agccatgcct ctgtggggag tctgcctccc agactggcta ctgtatgtaa 2520
 tgtatttatg tatgtatttg taaatgtgat agaagtctgg gggggagtgg ggggatggcg 2580
 gcagatgtta gccaggtctg cctcccccatt tcaagcccct tctccactgt agcaaaataa 2640
 gcacccccac cccatctgcc ttccaggtctt cttcacagcc tgcaactgcc agtggggccac 2700
 taggggcagt ctctggaagg gctggttcaa ggctgtttgg gtataggggt caggtaccaa 2760
 tgaagaatca cgacttgtct cactcctttg gaaattgttt tctttcctgt gtaattactt 2820
 catacctctg tttttgagaa actgttccgt ttgtcatctg tcatggtctc cttccaccaa 2880
 atcttcatct gggaatagca gcggtatccc tccaccaag tatggccacc tgtttgtctt 2940
 catatagaac aggggcttct ggtctgggtca tgtccctaga gacttactag agactggctg 3000
 accatg 3006

<210> 8
 <211> 3655
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 8
 ctccaacaag gtgtccagtc gggtagacgc agtgtccttc tctgaggatt gcagctactt 60
 tgtcactgca ggcaaccgac acatcaaatt ctggtatctc gatgacagca agacctcaaa 120
 ggtgaatgcc actgtgccct tgctgggccc ctcagggctg ctgggagagc tacggaacaa 180
 cctattcact gatgtggcct gtggcagagg aaaaaaggcg gacagtacct tctgcatcac 240
 gtcctcaggg ctgctgtgcg agttcagtga tcgaaggctt ttggacaagt gggtaggagct 300
 gagggcttac cccgaggatga aggatagtaa ccaggcctgc ctgccccca gttcctttat 360
 tacctgtctc tcagacaaca ccatccgcct gtggaacaca gagagctccg gggtagcatgg 420
 ctccaccctc caccgaaaca tctcagcag tgacctcatt aaaatcatct atgtggatgg 480
 gaacaccag gccctgctgg acacagagct gcctggagga gacaaagctg atgcatccct 540

25/55

gttgatccc cgcgtgggca tccgctcggg gtgtgtcagc cccaatggac agcatctagc 600
atcaggggac cgtatgggca cacttagggg gcacgaactt cagtcctga gtgagatgct 660
gaagggtggag gccatgact ctgagattct gtgcctggag tattctaagc cagacacagg 720
tctgaaactg ctagcatcgg cgagccggga cgggctgac catgtgctgg atgccgggcg 780
ggagtacagc ctacagcaga cgctggacga acactcatcc tccatcactg ctgtcaagtt 840
tgcagccagt gatgggcaag tccgcatgat cagctgtgga gcagacaaga gcatctactt 900
ccgcactgcg cagaagtctg gagatggagt gcagttcaca cggacacacc acgtggtgcg 960
gaagacgacc ctctatgaca tggatgtgga gccagctgg aagtacacgg ctatcggctg 1020
ccaggaccga aatattcggga tatttaacat cagcagtgga aagcagaaga agctgtttaa 1080
agggtcacag ggtgaggacg gcacactcat taagggtcag acagaccct cagggatcta 1140
cattgccacc agctgttctg acaagaatct ctccattttt gacttctcct caggcgagtg 1200
cgtggccacc atgtttggcc actcagagat tgtcactggc atgaaattta gtaatgattg 1260
taaacatctc atctctgtgt ctggggacag ctgcataatt gtgtggcgcc tgagctctga 1320
gatgaccatc agcatgaggc agcgtctggc cgagttgcgc cagcgtcagc ggggcggcaa 1380
gcagcaagga ccatcctctc cccaaagggc ttctggaccc aaccggcacc aggcccatc 1440
aatgtgtct cctggaccgg ctctctcatc agacagtac aaggaggag aagatgaggg 1500
gactgaagaa gaacttccag cactgcccgt ccttgccaag agtaccaaga aggcactggc 1560
ctcgggtccc agcccagctt tgccccgaag cctgtccac tgggagatga gtcgggcaca 1620
ggagtccgtg gggttcctgg acccagctcc tgcagccaac ccaggacca gaagaagg 1680
gcgtgggtt cagccagggt tggaactgag cgttagatcc atgctggatc tgcggcagct 1740
ggaaacactg gcccgaagcc tgcaggaccc tagccaggac tcgtggcca tcatccatc 1800
tggtcccagg aagcatgggc aggaggccct tgagacttca ctactagcc agaataaaa 1860
gccccctcg cctcaggctt cccaacctg ttctatccc catattatcc gattattgtc 1920
acaagaggaa ggggtctttg cccaagatct ggaacctgca ccattgaag atggtattgt 1980
ctaccggag ccgagtgaca accccacat ggataccagt gattccaag tgcaggctcc 2040
agcccgggga actctgggaa gagtgtaccc aggcagcagg agctcagaaa agcacagccc 2100
tgacagtcc tgcctgtgg attacagcag cagctgcctt tccagcccgg agcacccac 2160
tgaagactct gagagcacgg agcccctcag tgtggatggc atctcctcag acctgaaga 2220
gccagctgag ggtgatgaag aagaggaaga agaggaggga ggcatgggccc cctatgggct 2280

26/55

acaggagggc agccccaga ctccagacca ggagcagttt ctaaaacagc actttgagac 2340
tctggccagt ggagctgctc caggggcccc agtgcaggtc ccagagaggt cagagtctcg 2400
gagtatctct tcacgattcc tgttgcaagt acagaccgc ccactcaggg aaccatcccc 2460
atcctcctca agcctggcac tgatgtcgag accagcccag gtgccacagg catctggtga 2520
gcagccgaga ggcaatggtg ccaatcccc tggagcacc cggaggttg aaccgtcctc 2580
tggcaacccc agcccccagc aggcagcctc tgtgtgttg ccacgatgcc gtctcaaccc 2640
tgacagcagc tgggtccca agagagtggc cacagccagc ccctttctg gactccagaa 2700
ggcccagttc gtgcacagtc tggtgccaca ggaaagacat gaggccagtc tgcaggcccc 2760
ttcaccaggc gcactgctgt ctggggagat cgaagctcag gatggtctgg gctccctgcc 2820
cccagctgat ggccctccgt ctggcctca ctctatcag aacccacca ccagttccat 2880
ggccaagata tcccgagta tctctgttg ggagaacctg ggcttgggtg ctgaacctca 2940
agctcatgcc cccatccgag tctcaccact cagcaagctg gccctgcca gccgggtca 3000
cctggtcctg gacatcccca aaccactgcc tgaccgtcct accctggctg cattctctcc 3060
tgtcacaaa ggccggggcc ctggcgagc agaaaagcct ggcttcccg tgggcctagg 3120
aaaagctcac agtacaactg agagatgggc ctgtttggg gagggcacca ctccaagcc 3180
taggacagag tgccaggtc atcctgggccc cagcagcccc tgtgccagc aactgccagt 3240
cagcagcctc ttccaaggcc ctgaaaactt gcagccccc cccctgaga agactccaa 3300
ccccatggaa tgcaccaagc caggggcagc cctgagccag gactcagcg tgagcctgga 3360
gcagtgtgag cagctggtg cagagctccg cggcagcgtg cgccaggcag tgcggctcta 3420
ccactcgggtg gctgggtgca agatgccctc agcagagcaa agtcggattg ccagctcct 3480
cagagacacc ttctcttcag tgcgacagga gctggaagct gtggctgggg cagtgtgtc 3540
cagcccagc agcagccctg gggctgtgg agccgagcag acacaggccc tgctggagca 3600
atactcagaa ctgttgcttc gagccgtgga acggcgtatg gaacgcaaac tctga 3655

<210> 9
<211> 1881
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
atggcagacc agagaatgga catttcttca accatcagtg atttcatgtc cccgggcccc 60
accgacctgc ttccagctc tcttgggtacc agtgggtgtg attgcaaccg caaacggaaa 120
ggcagctcca ctgactacca agaaagcatg gacacagaca aagatgacct tcatggaagg 180

ttagaatata cagaacacca aggaaggata aaaaatgcaa gggaagctca cagtcagatt 240
gaaaagcggc gtcgggataa aatgaacagt tttatagatg aattggcttc tttggtacca 300
acatgcaacg caatgtccag gaaattagat aaacttactg tgctaaggat ggctgttcag 360
cacatgaaaa cattaagagg tgccaccaat ccatacacag aagcaaaacta caaaccaact 420
tttctatcag acgatgaatt gaaacacctc attctcaggg cagcagatgg atttttgttt 480
gtcgtaggat gtgaccgagg gaagatactc tttgtctcag agtctgtctt caagatcctc 540
aactacagcc agaattgatct gattggtcag agtttgtttg actacctgca tcctaaagat 600
attgccaaag tcaaggagca gctctcctcc tctgacaccg caccocggga gcggctcata 660
gatgcaaaaa ctggacttcc agttaaaaca gatataaccc ctgggccatc tcgattatgt 720
tctggagcac gacgttcttt cttctgtagg atgaagtgtg acaggccttc agtaaaggtt 780
gaagacaagg acttccctc tacctgtca aagaaaaag cagatcgaaa aagcttctgc 840
acaatccaca gcacaggcta ttgaaaagc tggccacca caaagatggg gctggatgaa 900
gacaacgaac cagacaatga ggggtgtaac ctcagctgcc tcgtcgcaat tggacgactg 960
cattctcatg tagttccaca accagtgaac ggggaaatca gggtgaaatc tatggaatat 1020
gtttctcggc acgcgataga tggaaagttt gttttgttag accagagggc aacagctatt 1080
ttggcatatt taccacaaga acttctaggc acatcgtgtt atgaatatat tcaccaagat 1140
gacataggac atcttgcaga atgtcatagg caagttttac agacgagaga aaaaattaca 1200
actaattgct ataaatttaa aatcaaagat ggttctttta tcacactacg gagtcgatgg 1260
ttcagtttca tgaaccttg gaccaaggaa gtagaatata ttgtctcaac taacactgtt 1320
gttttagcca acgtcctgga aggcggggac ccaaccttcc cacagctcac agcatcccc 1380
cacagcatgg acagcatgct gccctctgga gaaggtggcc caaaggaggc ccacccact 1440
gttccaggga ttccaggggg aaccggggct ggggcaggaa aaataggccg aatgattgct 1500
gaggaaatca tggaaatcca caggataaga gggtcacgc cttctagctg tggctccagc 1560
ccattgaaca tcacgagtac gcctccccct gatgcctctt ctccaggagg caagaagatt 1620
ttaaattggag ggactccaga cattccttcc agtggcctac tatcaggcca ggctcaggag 1680
aaccaggtt atccatattc tgatagttct tctattcttg gtgagaaccc ccacataggt 1740
atagacatga ttgacaacga ccaaggatca agtagtccca gtaatgatga ggcagcaatg 1800
gctgtcatca tgagcctctt ggaagcagat gctggactgg gtggccctgt tgactttagt 1860
gacttgccat ggccgctgta a 1881

<210> 10
<211> 2181
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 10

```
atggaagata gactccacat ggataatgga ctggtacccc aaaagattgt gtcggtgcac      60
ttgcaggact ccactctgaa ggaagttaag gatcaggctct caaacaagca agcccagatc    120
ctagagccga agcctgaacc ttctcttgag attaagcctg agcaggacgg tatggagcat    180
gttggcagag atgacccaaa ggctcttggt gaagaaccca aacaaaggag aggcagtgcc    240
tctgggagtg agcctgctgg ggacagtgc aggggagggg gccccgttga gcattatcac    300
ctccatctgt ctagttgcca cgagtgtctg gaacttgaga acagcaccat tgagtcagtc    360
aagtttgcgt ctgccgagaa cattccagac ctccctacg attatagcag cagtttgag      420
agtgttgctg atgagacctc ccccgaaaga gaaggagga gagtcaacct cacgggaaag      480
gcaccaaca tcctcctcta tgtgggctcc gactcccagg aagccctcgg cgggttcac      540
gaggtccggt ctgtctggc cgactgtgtg gacattgaca gttatattct ctaccacctg      600
ctggaggaca gtgtctcag agaccctgg acggacaact gtctgtgtt ggtcattgct      660
accagggagt ccattcccga agacctgtac cagaagtcca tggcctatct ttctcaggga      720
gggaaggtgt tgggcctgtc ttcatccttc acctttggtg gctttcaggt gacaagcaag      780
ggtgcactgc acaagacagt ccagaacttg gttttctcca aggtgacca gagcgagggtg      840
aagctcagcg tcttgagcag tggctgcagg taccaggaag gccccgtccg gctcagcccc      900
ggcaggctcc agggccacct ggagaatgag gacaaggaca ggatgattgt gcatgtgcct      960
tttggaactc gcgggggaga agctgttctt tgccagggtc acttagaact acctcccagc    1020
tccaacatag tgcaactcc agaagatttt aacttgctca agtcaagcaa ttttagaaga    1080
tacgaagtcc ttagagagat tctgacaacc cttggcctca gctgtgacat gaaacaagtt    1140
cctgccttaa ctctcttta cttgtgtgca gctgcggagg aaatcaggga tcctcttatg    1200
cagtggcttg ggaaacatgt ggactccgag ggagaaataa aatccggcca gctctctctt    1260
agatttgttt catctacgt gtctgaagta gaaataaccc catcttgtat acctgtggtg    1320
accaacatgg aggccttctc atcagaacat ttcaacttag agatctatcg ccaaaatctg    1380
cagaccaagc agttggggaa agtaattttg ttgcccgaag tgacccccac aacgatgcgt    1440
ctcctggatg ggctgatgtt tcagacaccg caggaaatgg gcttaatagt gatcgcggcc    1500
```

29/55

cggcagaccg agggcaaagg acggggaggg aatgtgtggc tgagccctgt gggatgtgct 1560
cttttacttc tgctcatctc cattccactg agatcccagc tgggacagag gatcccgttt 1620
gtccagcatc tgatgtccgt ggctgtcgtg gaagcagtga ggtccattcc cgagtatcag 1680
gatatcaact tacgagtga gttggccaac gatatttatt acagtgacct catgaagatc 1740
ggcggagttc tggttaactc aacactcatg ggagaaacat tttatatact tattggctgt 1800
ggatttaatg tgactaacag taaccctacc atctgcatca acgacctcat cacagaatac 1860
aataaacaac acaaggcaga actgaagccc ttaagagccg attatctcat cgccagagtc 1920
gtgactgtgc tggagaaact gatcaaagag tticaggaca aagggcccaa cagcgtcctt 1980
cccctttatt accgatactg ggtccacagt ggtcagcaag tccatctggg cagcgcagag 2040
ggaccaaagg tgtccatcgt tggcctggac gattctggct tcctccaggt tcaccaggag 2100
ggcggcgagg ttgtgactgt gcaccgggac ggcaactcct tcgacatgct gagaaacctc 2160
atcctcccca aacggcggt a 2181

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491 (SEQ ID NO:6)

<400> 11

Gln Gly Phe Asp Lys Gln
1 5

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA1491 (SEQ ID NO:6) showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491

<400> 12

Gln Thr Phe Asp Lys Gln
1 5

30/55

<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> a peptide consisting of sequential 6 amino acid residues which exists in an amino acid sequence of JNK3

<400> 13

Ser Leu Phe Pro Ala Asp
1 5

<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> a partial peptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3), which shows high homology with the peptide of SEQ ID NO:8

<400> 14

Ser Leu Pro Pro Ala Asp
1 5

<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> a peptide consisting of sequential 6 amino acid residues which exists in an amino acid sequence of JNK3

<400> 15

Lys Val Ile Glu Gln Leu
1 5

<210> 16
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

31/55

<221> MISC_FEATURE

<223> a partial peptide of BMAL1 or BMAL2, which shows high homology with the peptide of SEQ ID NO:10

<400> 16

Lys Val Lys Glu Gln Leu
1 5

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> a peptide consisting of sequential 6 amino acid residues which exists in an amino acid sequence of JNK3

<400> 17

Leu Pro Pro Ser Ser Ser
1 5

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> a peptide consisting of sequential 6 amino acid residues which exists in an amino acid sequence of JNK3

<400> 18

Ala Asn Leu Cys Gln Val
1 5

<210> 19

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> a partial peptide of BPL1, which shows high homology with the peptide of SEQ ID NO:12

<400> 19

32/55

Leu Pro Pro Ser Ser Asn
1 5

<210> 20
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> a partial peptide of BPL1, which shows high homology with the pep-
tide of SEQ ID NO:13

<400> 20

Ala Val Leu Cys Gln Val
1 5

<210> 21
<211> 33
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local align-
ment between JNK3 and KIAA1491 (SEQ ID NO:6)

<400> 21

Gln Pro Ser Pro Ser Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro
1 5 10 15

Pro Ser Ser Ser Val Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr
20 25 30

Leu

<210> 22
<211> 33
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of KIAA1491 (SEQ ID NO:6) showing high score
in the local alignment between JNK3 and KIAA1491

<400> 22

33/55

Gln Ser Ser Ala Thr Phe Ser Thr Ala Ala Thr Ser Val Ser Ser Ser
1 5 10 15

Ala Ser Ser Gly Val Ser Leu Ser Ser Ser Met Asn Thr Ala Asn Ser
20 25 30

Leu

<210> 23
<211> 43
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491 (SEQ ID NO:6)

<400> 23

Ser Pro Ser Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro Pro Ser
1 5 10 15

Ser Ser Val Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr Leu Ala
20 25 30

Ser Asp Thr Asp Ser Ser Leu Glu Ala Ser Ala
35 40

<210> 24
<211> 43
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA1491 (SEQ ID NO:6) showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491

<400> 24

Ala Ala Thr Ser Val Ser Ser Ser Ala Ser Ser Gly Val Ser Leu Ser
1 5 10 15

Ser Ser Met Asn Thr Ala Asn Ser Leu Cys Leu Gly Gly Thr Pro Ala
20 25 30

34/55

Ser Ala Ser Ser Ser Ser Ser Arg Ala Ala Pro
35 40

<210> 25
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial sequence identical in the sequences of JNK3 and KIAA1491(
SEQ ID NO:6)

<400> 25

Pro Asp Lys Gln
1

<210> 26
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491 (SEQ ID NO:6)

<400> 26

His Ser Ala Gly Ile Ile His Arg Asp Leu Lys Pro Ser Asn
1 5 10

<210> 27
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA1491 (SEQ ID NO:6) showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491

<400> 27

His Pro Thr Thr Thr Thr Ser Trp Asp Leu Lys Pro Pro Thr
1 5 10

<210> 28
<211> 4

35/55

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial sequence identical in the sequences of JNK3 and KIAA1491(
SEQ ID NO:6)

<400> 28

Asp Leu Lys Pro
1

<210> 29
<211> 30
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local align
ment between JNK3 and KIAA1491 (SEQ ID NO:6)

<400> 29

Pro Ser Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Ser Val Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr Leu
20 25 30

<210> 30
<211> 29
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA1491 (SEQ ID NO:6) showing high score
in the local alignment between JNK3 and KIAA1491

<400> 30

Pro Tyr Gln Ser Pro Val Ser Ser Ser Glu Ser Ala Pro Gly Thr Ile
1 5 10 15

Met Asn Gly His Gly Gly Gly Arg Ser Gln Gln Thr Leu
20 25

<210> 31

36/55

<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial sequence identical in the sequences of JNK3 and KIAA1491(
SEQ ID NO:6)

<400> 31

Ser Ser Glu Ser
1

<210> 32
<211> 33
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491 (SEQ ID NO:6)

<400> 32

Ser Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro Pro Ser Ser Ser
1 5 10 15

Val Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr Leu Ala Ser Asp
20 25 30

Thr

<210> 33
<211> 33
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA1491 (SEQ ID NO:6) showing high score
in the local alignment between JNK3 and KIAA1491

<400> 33

Thr Gly Asp Leu Thr Ser Ser Pro Leu Ser Gln Leu Ser Ser Ser Leu
1 5 10 15

37/55

Ser Ser His Gln Ser Ser Leu Ser Ala His Ala Ala Leu Ser Ser Ser
 20 25 30

Thr

<210> 34
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491 (SEQ ID NO:6)

<400> 34

Pro Ser Pro Ser Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro Pro
 1 5 10 15

Ser Ser Ser Val Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr Leu
 20 25 30

Ala Ser Asp Thr Asp Ser Ser Leu Glu Ala Ser Ala
 35 40

<210> 35
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Partial oligopeptide of KIAA1491 (SEQ ID NO:6) showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA1491

<400> 35

Ser Ser Pro Leu Ser Gln Leu Ser Ser Ser Leu Ser Ser His Gln Ser
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala His Ala Ala Leu Ser Ser Ser Thr Ser His Thr His
 20 25 30

Ala Ser Val Glu Ser Ala Ser Ser His Gln Ser Ser Ala
 35 40 45

38/55

<210> 36
<211> 31
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596 (SEQ ID NO:3)

<400> 36

Gln Pro Ser Pro Ser Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro
1 5 10 15

Pro Ser Ser Ser Val Asn Asp Ile Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln
20 25 30

<210> 37
<211> 31
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3) showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596

<400> 37

Gln Pro Pro Pro Pro Glu Lys Thr Pro Asn Pro Met Glu Cys Thr Lys
1 5 10 15

Pro Gly Ala Ala Leu Ser Gln Asp Ser Ala Val Ser Leu Glu Gln
20 25 30

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596 (SEQ ID NO:3)

<400> 38

Phe Thr Pro Gln Lys Thr Leu Glu Glu
1 5

39/55

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3) showing high score
in the local alignment between JNK3 and KIAA0596

<400> 39

Tyr Ser Leu Gln Gln Thr Leu Asp Glu
1 5

<210> 40
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment
between JNK3 and KIAA0596 (SEQ ID NO:3)

<400> 40

Ser Asp Cys Thr Leu Lys Ile Leu Asp Phe Gly Leu Ala Arg Thr Ala
1 5 10 15

Gly Thr Ser Phe
20

<210> 41
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3) showing high score
in the local alignment between JNK3 and KIAA0596

<400> 41

Ser Asp Lys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Phe Ser Ser Gly Glu Cys Val
1 5 10 15

Ala Thr Met Phe
20

40/55

<210> 42
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596 (SEQ ID NO:3)

<400> 42

Lys Leu Lys Ala Ser Gln Ala Arg Asp Leu Leu Ser Lys Met Leu
1 5 10 15

<210> 43
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3) showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596

<400> 43

Lys Leu Leu Ala Ser Ala Ser Arg Asp Arg Leu Ile His Val Leu
1 5 10 15

<210> 44
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596 (SEQ ID NO:3)

<400> 44

Ser Leu Phe Pro Ala Asp Ser Glu His Asn Lys Leu Lys Ala Ser Gln
1 5 10 15

Ala Arg Asp Leu Leu Ser Lys
20

<210> 45

41/55

<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3) showing high score
in the local alignment between JNK3 and KIAA0596

<400> 45

Ser	Leu	Val	Pro	Gln	Glu	Arg	His	Glu	Ala	Ser	Leu	Gln	Ala	Pro	Ser
1				5					10					15	

Pro	Gly	Ala	Leu	Leu	Ser	Arg
			20			

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596 (SEQ ID NO:3)

<400> 46

Ile	Glu	Glu	Trp	Lys	Glu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Glu	Val	Met	Asn	Ser	Glu
1				5					10					15	

Glu

<210> 47
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3) showing high score
in the local alignment between JNK3 and KIAA0596

<400> 47

Leu	Asp	Lys	Trp	Val	Glu	Leu	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Val	Lys	Asp	Ser
1				5					10					15	

42/55

Asn Gln

<210> 48
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596 (SEQ ID NO:3)

<400> 48

Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr Leu Ala Ser Asp Thr Asp
 1 5 10

<210> 49
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Partial oligopeptide of KIAA0596 (SEQ ID NO:3) showing high score in the local alignment between JNK3 and KIAA0596

<400> 49

Ser Met Leu Ser Pro Gly Pro Ala Leu Ser Ser Asp Ser Asp
 1 5 10

<210> 50
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 50

Ser Lys Ser Lys Val Asp Asn Gln Phe Tyr Ser Val Glu Val Gly Asp
 1 5 10 15

Ser Thr Phe Thr Val Leu Lys
 20

43/55

<210> 51
<211> 23
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of BMAL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 51

Thr Arg Glu Lys Ile Thr Thr Asn Cys Tyr Lys Phe Lys Ile Lys Asp
1 5 10 15

Gly Ser Phe Ile Thr Leu Arg
20

<210> 52
<211> 14
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 52

Val Gly Asp Ser Thr Phe Thr Val Leu Lys Arg Tyr Gln Asn
1 5 10

<210> 53
<211> 14
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of BMAL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 53

Val Ser Glu Ser Val Phe Lys Ile Leu Asn Tyr Ser Gln Asn
1 5 10

<210> 54
<211> 10

44/55

<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 54

Glu Gln Leu Gly Thr Pro Cys Pro Glu Phe
1 5 10

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of BMAL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 55

Glu Leu Leu Gly Thr Ser Cys Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 56
<211> 22
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 56

Ser Ser Met Ser Thr Asp Gln Thr Leu Ala Ser Asp Thr Asp Ser Ser
1 5 10 15

Leu Glu Ala Ser Ala Gly
20

<210> 57
<211> 22
<212> PRT
<213> homo sapiens

45/55

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of BMAL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 57

Ser Ser Pro Ser Asn Asp Glu Ala Ala Met Ala Val Ile Met Ser Leu
1 5 10 15

Leu Glu Ala Asp Ala Gly
20

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 58

Ser Asp Cys Thr Leu Lys Ile Leu Asp Phe
1 5 10

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of BMAL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 59

Ser Glu Ser Val Phe Lys Ile Leu Asn Tyr
1 5 10

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment

nment between JNK3 and BMAL1

<400> 60

Tyr Ile Asp Gln Trp Asn Lys Val Ile Glu
1 5 10

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of BMAL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 61

Phe Met Asn Pro Trp Thr Lys Glu Val Glu
1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 62

Val Lys Gly Gln Pro Ser Pro Ser Gly Ala Ala
1 5 10

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Partial oligopeptide of BMAL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL1

<400> 63

Val Lys Glu Gln Leu Ser Ser Ser Asp Thr Ala
1 5 10

47/55

<210> 64
<211> 31
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 64

Glu Glu Lys Thr Lys Asn Gly Val Val Lys Gly Gln Pro Ser Pro Ser
1 5 10 15

Gly Ala Ala Val Asn Ser Ser Glu Ser Leu Pro Pro Ser Ser Ser
20 25 30

<210> 65
<211> 31
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of BMAL2 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 65

Asp Asp Ser Ser Pro Thr Gly Leu Met Lys Asp Thr His Thr Val Asn
1 5 10 15

Cys Arg Ser Met Ser Asn Lys Glu Leu Phe Pro Pro Ser Pro Ser
20 25 30

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 66

Glu Gln Leu Gly Thr Pro Cys Pro Glu Phe

48/55

1

5

10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of BMAL2 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 67

Glu Leu Leu Gly Thr Ser Cys Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 23
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 68

Ser Lys Ser Lys Val Asp Asn Gln Phe Tyr Ser Val Glu Val Gly Asp
1 5 10 15

Ser Thr Phe Thr Val Leu Lys
20

<210> 69
<211> 23
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of BMAL2 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 69

Ser Lys Glu Lys Ile Leu Thr Asp Ser Tyr Lys Phe Arg Ala Lys Asp
1 5 10 15

49/55

Gly Ser Phe Val Thr Leu Lys
20

<210> 70
<211> 12
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 70

Ser Lys Ser Lys Val Asp Asn Gln Phe Tyr Ser Val
1 5 10

<210> 71
<211> 12
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Partial oligopeptide of BMAL2 showing high score in the local alignment between JNK3 and BMAL2

<400> 71

Ser Lys Lys Lys Glu His Arg Lys Phe Tyr Thr Ile
1 5 10

<210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment, between JNK3 and BPL1

<400> 72

Ser Tyr Leu Leu Tyr Gln Met Leu
1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT

50/55

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 73

Ser Tyr Ile Leu Tyr His Leu Leu
1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 74

Ser Glu Pro Thr Leu Asp Val Lys
1 5

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 75

Pro Glu Pro Ser Leu Glu Ile Lys
1 5

<210> 76

<211> 14

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

51/55

<400> 76

Ile His Arg Asp Leu Lys Pro Ser Asn Ile Val Val Lys Ser
1 5 10

<210> 77

<211> 14

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 77

Val His Leu Glu Leu Pro Pro Ser Ser Asn Ile Val Gln Thr
1 5 10

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 78

Gln Lys Thr Leu Glu Glu Phe Gln Asp
1 5

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 79

Glu Lys Leu Ile Lys Glu Phe Gln Asp
1 5

52/55

<210> 80
<211> 4
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial sequence identical in the sequences of JNK3 and BPL1

<400> 80

Glu Phe Gln Asp

1

<210> 81
<211> 12
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 81

Asp Ala Asn Leu Cys Gln Val Ile Gln Met Glu Leu
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 82

Glu Ala Val Leu Cys Gln Val His Leu Glu Leu
1 5 10

<210> 83
<211> 4
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial sequence identical in the sequences of JNK3 and BPL1

<400> 83

Leu Cys Gln Val

1

<210> 84

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 84

Leu Pro Pro Ser Ser Ser Val

1

5

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 85

Leu Pro Pro Ser Ser Asn Ile

1

5

<210> 86

<211> 5

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Partial sequence identical in the sequences of JNK3 and BPL1

<400> 86

Leu Pro Pro Ser Ser

1

5

54/55

<210> 87
<211> 15
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 87

Pro Gln Lys Thr Leu Glu Glu Phe Gln Asp Val Tyr Leu Val Met
1 5 10 15

<210> 88
<211> 15
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 88

Ser Gln Glu Ala Leu Gly Arg Phe His Glu Val Arg Ser Val Leu
1 5 10 15

<210> 89
<211> 11
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Partial oligopeptide of JNK3 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 89

Lys Thr Leu Glu Glu Phe Gln Asp Val Tyr Leu
1 5 10

<210> 90
<211> 11
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE

55/55

<223> Partial oligopeptide of BPL1 showing high score in the local alignment between JNK3 and BPL1

<400> 90

Arg Ser Ile Pro Glu Tyr Gln Asp Ile Asn Leu
1 5 10

Arg Ser Ile Pro Glu Tyr Gln Asp Ile Asn Leu

THIS PAGE BLANK (USP)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/JP03/04120

 A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 Int.Cl⁷ A61K45/00, 38/17, A61P25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 Int.Cl⁷ A61K45/00, 38/17, A61P25/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 CA (STN), MEDLINE (STN), SwissProt/PIR/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/31132 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 02 June, 2000 (02.06.00), Full text & AU 200011848 A & EP 1134230 A1 & JP 2000-583958 A	1, 2, 5, 7-12, 18-30
A	WO 01/57190 A2 (HYSEQ, INC.), 09 August, 2001 (09.08.01), Full text & AU 200134847 A & AU 200134944 A & US 2002/0128187 A1	1, 2, 5, 7-12, 18-30
A	WO 99/57137 A1 (THE PRESIDENT & FELLOWS OF HARVARD COLLEGE), 11 November, 1999 (11.11.99), Full text & AU 9939760 A	1, 2, 5, 7-12, 18-30

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

 Date of the actual completion of the international search
 17 June, 2003 (17.06.03)

 Date of mailing of the international search report
 01 July, 2003 (01.07.03)

 Name and mailing address of the ISA/
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.:

PCT/JP03/04120

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 3, 4, 6, 13-17

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The inventions as set forth in claims 3, 4, 6 and 13 to 17 pertain to methods for treatment of the human body by therapy (Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT).

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K 45/00, 38/17, A61P 25/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K 45/00, 38/17, A61P 25/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), MEDLINE (STN), SwissProt/PIR/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 00/31132 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2000.06.02, 全文 &AU 200011848 A &EP 1134230 A1 &JP 2000-583958 A	1, 2, 5, 7-12, 18-30
A	WO 01/57190 A2 (HYSEQ, INC.) 2001.08.09, 全文 &AU 200134847 A &AU 200134944 A &US 2002/0128187 A1	1, 2, 5, 7-12, 18-30

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.06.03

国際調査報告の発送日

01.07.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

八原 由美子

4C

9261

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 99/57137 A1 (THE PRESIDENT & FELLOWS OF HARVARD COLLEGE) 1999. 11. 11, 全文 &AU 9939760 A	1, 2, 5, 7-12, 18-30

第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (P C T 1 7 条 (2) (a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 3, 4, 6, 13-17 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲 3, 4, 6, 13-17 に記載のものは、治療による人外の処置方法に該当する (P C T 1 7 条 (2) (a) (i) 及び P C T 規則 3 9. 1 (iv))。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6. 4 (a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

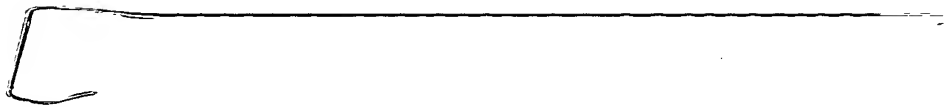
次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

THIS PAGE BLANK (USPTO)



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)
